

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année Scolaire 1948-1949

Série Etat N° 27

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

POUR L'OBTENTION

DU GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

(Doctorat d'Etat)

PAR

ANDRÉ RECOULES

Pharmacien

Licencié ès Sciences Naturelles

1^{re} THÈSE : DOSAGE DE L'INOSITOL EN PRÉSENCE DES GLUCIDES
CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'INOSURIE

2^e THÈSE : PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ

soutenues le 4 Novembre 1948 devant la Commission d'Examen

MM. P. FLEURY, *Président*
Y. RAOUL, *Professeur*
J. COURTOIS, *Maître de Conférences*



CENTRE DE DOCUMENTATION UNIVERSITAIRE

TOURNIER & CONSTANS

5, Place de la Sorbonne, 5

PARIS - V^e

1948

Personnel de la Faculté de Pharmacie de Paris

ADMINISTRATION :

MM. RENÉ FABRE, *Doyen*, O. *, * I.
MARCEL SOMMELET, *Assesseur*, *, * I.
H.-J. LIONNET, *Secrétaire*, *, * I.
L. JEANDEL, *Rédacteur*, * A.

PROFESSEURS :

MM. SOMMELET, *, * I.	Chimie organique.
FABRE, O. *, * I.	Toxicologie.
PICON, *, * I.	Chimie minérale.
DELABY, *, * I.	Pharmacie chimique.
MASCRE, *, * I.	Botanique.
SARTORY, C. *, * I.	Microbiologie.
FLEURY, *, * I.	Chimie biologique.
JANOT, * I.	Pharmacie galénique.
CHARONNAT, * I.	Chimie analytique.
VALETTE, * I.	Zoologie appliquée.
BEDEL, *, * I.	Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie.
PARIS	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale.
GUILLOT	Physique.
RAOUL	Professeur sans chaire.

Doyen honoraire : M. RADAIS, O. *, * I.

Professeurs honoraires :

MM. DELEPINE, O. *, * I. et LEBEAU, O. *, * I., Membres de l'Institut.
PERROT, C. *, * I., COUTIERE, O. *, * I., BOUGAULT, O. *, * I.,
LUTZ, *, * I., GORIS, O. *, * I., HERISSEY, O. *, * I., LAUNOY,
O. *, * I.

MAITRES DE CONFERENCES :

MM. GAUTIER, * I.	Sciences physiques et chimiques.
DOMANGE, * I.	Sciences physiques et chimiques.
CRETE	Sciences naturelles.
COURTOIS	Sciences physiques et chimiques.
MORETTE	Sciences physiques et chimiques.
Mlle LAMBIN, * I.	Sciences naturelles.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES :

MM. CORRIEZ, * I.	Physique.
HARISPE, travaux pratiques de 1 ^{re} année	Chimie générale et pharmaceutique.
CAVIER	Biologie animale.
TRUHAUT, *, * A., travaux pratiques de 4 ^e année....	Chimie biologique, Bromatologie et Pharmacie chimique.
MOREAU	Chimie analytique.
N.	Botanique.
GERMAN (F.F.)	Microbiologie.

Bibliothécaire en chef : M. GARNIER, * I.

Bibliothécaire : Mlle LAVAUD, * A.



A Monsieur le Professeur Paul FLEURY,

Professeur à la Faculté de Pharmacie,
Pharmacien-Chef des Hôpitaux Psychiatriques de la Seine,
Chevalier de la Légion d'Honneur.

Hommage de respectueuse reconnaissance.

A Monsieur Jean COURTOIS,

Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie,
Pharmacien des Hôpitaux de Paris.

En témoignage de respectueuse gratitude.

A MA FEMME.

A MES PARENTS.

A MES AMIS.

INTRODUCTION

Le dosage chimique de l'inositol dans un milieu complexe n'a pas, jusqu'à ce jour, reçu de solution pleinement satisfaisante (1).

Si, actuellement, ce corps est facilement dosable en solution pure à l'aide de diverses techniques, la présence d'autres corps et, en particulier, de glucides, ne permet pas un dosage sûr et rapide, applicable à de très faibles quantités.

L'intérêt d'un tel dosage d'inositol est pourtant manifeste, car ce composé se retrouve dans la presque totalité du monde végétal et animal. De nombreux auteurs lui attribuent une grande importance dans les processus d'assimilation hydrocarbonée et en font même la première étape de la formation des glucides.

Chez l'homme, l'inositol se retrouve à peu près dans tous les tissus, à des taux variables. Il a également été mis en évidence dans l'urine pathologique, notamment par MEILLERE et P. FLEURY [1^{bis}]; sa présence dans l'urine de l'homme normal est, par contre, beaucoup plus controversée.

Dans ce travail, nous nous sommes attachés d'abord à mettre au point une technique de dosage de l'inositol d'abord à l'état pur, puis en présence de glucides, enfin à appliquer la technique de dosage ainsi déterminée à un liquide biologique où la présence d'inositol était controversée, l'urine; enfin nous avons effectué en série des dosages de l'inositol urinaire, pour essayer d'éclaircir le problème de l'inosurie.

Ce travail a été effectué au Laboratoire de Chimie Biologique de la Faculté de Pharmacie de Paris, sous la direction du Professeur P. FLEURY, qui a bien voulu nous en donner le sujet, et qui nous a constamment guidé en nous prodiguant ses conseils et son aide bienveillante. Nous le prions de bien vouloir accepter ici l'expression de notre profonde reconnaissance et de notre sincère attachement.

Nous remercions vivement Monsieur J. COURTOIS, Maître de Confé-

(1) Il importe de remarquer que, voici quelques années seulement, WOOLLEY, suivi d'autres chercheurs tel que SCHOPFER (voir P. FLEURY et P. BALATRE : Les Inositols.

[I] a apporté une solution à ce problème dans une voie très différente, en faisant connaître un dosage biologique d'une remarquable spécificité. Malgré l'intérêt qui s'attache à cette méthode, nous ne pensons pas, pour des raisons à la fois théoriques et pratiques, que l'existence d'un dosage exclusivement biologique enlève son intérêt à la recherche d'une solution purement chimique du problème. Ces deux méthodes basées sur des principes entièrement différents et présentant chacune leurs avantages et leurs inconvénients doivent se porter un mutuel appui, et leur emploi simultané peut mener à de fécondes découvertes.

rences, qui a suivi pas à pas notre travail et nous a constamment aidé et encouragé.

Nous remercions Monsieur le Professeur Y. RAOUL qui a bien voulu accepter de faire partie de notre jury de thèse.

Monsieur le Professeur H. HERISSEY nous a fait profiter de sa grande expérience lors de nos essais pour l'extraction de l'inositol; nous tenons à lui exprimer notre respectueuse gratitude.

Nous remercions également pour ses nombreux conseils, Monsieur E. CATTELAÏN, Assistant de la Chaire de Chimie Biologique.

Nous exprimons notre gratitude au Conseil de la Faculté qui nous a accordé une subvention pendant notre travail.

Nous garderons un excellent souvenir de tous nos camarades de laboratoire, qui surent créer une ambiance particulièrement sympathique.

PLAN DU TRAVAIL

INTRODUCTION.

I^{ère} partie : DOSAGE DE L'INOSITOL en SOLUTION PURE :

- corps et solutions utilisés;
- dosage volumétrique de l'inositol;
- dosage manométrique de l'inositol.

II^{ème} partie : DOSAGE de l'INOSITOL en PRÉSENCE de GLUCIDES :

- travaux antérieurs;
- destruction des glucides par l'oxyde de magnésium;
- élimination des glucides résiduels;
- dosage de l'inositol en présence de glucides.

III^{ème} partie : L'INOSURIE :

- travaux antérieurs;
- dosage de l'inositol dans l'urine;
- résultats obtenus;
- essai d'extraction de l'inositol urinaire.

CONCLUSIONS.

lère PARTIE.

DOSAGE de l'INOSITOL en SOLUTION PURE.

Le dosage de l'inositol en solution pure n'a reçu jusqu'ici que deux solutions. La première technique proposée fut celle de P. FLEURY et J. MARQUE [2] : oxydation de l'inositol par une solution mercurielle alcaline et dosage à l'iode du mercure réduit.

P. FLEURY avec Mme M. JOLY [3] en proposèrent ensuite une deuxième, utilisant l'acide periodique.

Nous avons régulièrement mis en oeuvre cette dernière technique, parallèlement à une méthode basée sur un nouveau principe : mesure du dégagement de gaz carbonique produit par l'oxydation de l'inositol par l'acide periodique.

Avant d'exposer en détail ces deux techniques, nous allons indiquer les réactifs nécessaires et étudier leur préparation.

CHAPITRE I

CORPS ET SOLUTIONS UTILISES.

A. INOSITOL

Nous avons étudié simultanément plusieurs échantillons d'inositol :

Echantillon 1 : inositol impur, de provenance variée, recristallisé dans l'alcool à 80°; point de fusion : 223-224°.

Echantillon 2 : inositol pur, présenté en ampoules scellées et stérilisées, à la dilution $\frac{M}{10}$, obtenu par P. FLEURY; point de fusion de l'inositol après dessiccation de la solution: 223-224°.

Echantillon 3 : inositol pur, provenant de BALE, point de fusion : 224-225°.

Echantillon 4 : inositol extrait par M. P. FLEURY des baies de Gui; point de fusion : 223-224°.

Echantillon 5 : inositol préparé par hydrolyse à partir de la Phytine; point de fusion : 223-224°.

Ces cinq échantillons nous ont donné des résultats absolument superposables; dans le cours de ce travail tout l'inositol utilisé proviendra de l'échantillon 5.

B. SOLUTION D'ACIDE PERIODIQUE $\frac{N}{10}$

Cette solution a été préparée par action sur le périodate de sodium pur PROLABO de l'acide sulfurique. La purification du périodate de sodium, indiquée par Mme Y. FIEVET-GUINARD [4] s'est révélée inutile.

29,4 g. de périodate de sodium sec sont introduits dans une fiole jaugée de 1.000 cm³. On ajoute 300 cm³ de solution normale d'acide sulfurique, et on complète à 1.000 cm³ avec de l'eau distillée.

Cette solution est sensiblement N/10; elle est d'une excellente conservation; elle renferme une certaine quantité de sulfate de sodium.

Cette solution nous a servi pour les titrages d'inositol par réduction de l'acide periodique. Elle n'a pas besoin d'être ajustée exactement.

C. SOLUTION D'ACIDE PERIODIQUE PUR N/2.

Cette solution est préparée par action de l'acide sulfurique sur le periodate de baryum.

Le periodate de baryum est obtenu par double décomposition entre le periodate de potassium et l'acétate de baryum. La technique de sa préparation, ainsi que le dosage du baryum et la préparation de la solution d'acide periodique sont décrits en détail par Mme Y. FIEVET-GUINARD.

Cette solution est pratiquement stable et se conserve parfaitement. - Elle n'a pas besoin d'être exactement ajustée. Elle nous servira pour tous les dosages d'inositol par mesure du gaz carbonique.

CHAPITRE II.

DOSAGE VOLUMETRIQUE de l'INOSITOL

Ce dosage fut indiqué pour la première fois par P. FLEURY et Mlle M. JOLY [5]. La simplicité est très grande et la précision obtenue excellente si l'on observe les quelques prescriptions que nous exposerons.

Le principe de ce dosage consiste à mettre en présence d'une quantité connue et en excès de solution d'acide periodique titré une quantité inconnue d'inositol. Après un certain temps de contact, on détermine l'acide periodique restant par double retour; on ajoute à cet effet un excès connu d'anhydride arsénieux qui réduit l'acide periodique restant; on titre l'anhydride arsénieux non oxydé par une solution titrée d'iode.

J. LANGE [6] indiquait que l'oxydation de l'inositol par l'acide periodique demandait six atomes d'oxygène par molécule d'inositol.

Mademoiselle M. JOLY [7] observe que la consommation en oxygène dépasse fréquemment le chiffre de 6 atomes, et atteint 6,5 à 6,8.

Madame Y. FIEVET-GUINARD [8] précise le chiffre exact en montrant que l'oxydation est lente, qu'à son terme la consommation d'oxygène est de 6,7 atomes, mais que le terme n'est atteint qu'après un temps de contact parfois très long, variable avec la température. Elle indique en effet qu'à 0° la réaction n'est complète qu'au bout de 30 jours; à 50°, 6 heures seulement sont nécessaires. Cet auteur précise de plus que ni la concentration des réactifs, ni une variation de pH comprise entre 1,2 et 6 n'influent sur la réaction.

Nous avons effectué tous nos dosages à la température de 37°; la réaction demande, à cette température, environ 2 à 3 jours pour être totale. En vue de réduire ce délai nous opérerons tous nos dosages en présence d'un témoin d'inositol pur titré; nous ne laissons alors la réaction s'effectuer, à 37°, que pendant 12 à 24 heures, généralement une nuit. Le chiffre inconnu d'inositol est calculé par rapport au dosage effectué sur l'inositol déjà titré. La consommation d'oxygène dans ces conditions est généralement voisine de 6,5 atomes par molécule d'inositol.

Voici le protocole d'un de ces dosages d'inositol, tels qu'ils ont été pratiqués.

- erlenmeyer n° 1 : témoin acide periodique:

Sol. N/10 d'acide periodique : 10 cm³

- erlenmeyer n° 2 : témoin inositol :

Inositol : 10 cm³ de sol. à 0,9 gr. p. 1000 9 mg.

Sol. N/10 d'acide periodique 10 cm³

- erlenmeyer n° 3 : essai :

Corps ou solution à doser Q.s.
(voisine de 10 cm³)

Sol. N/10 d'acide periodique 10 cm³

Les 3 erlenmeyer sont bouchés et placés à l'étuve à 37° pendant au moins 12 heures (une nuit).

Ajouter ensuite dans chaque erlen :

Solution de bicarbonate de potassium 10 cm³
à 20 p. 100

Solution d'anhydride arsénieux N/10 15 cm³

Solution d'iodure de potassium à 20 p. 100 0,5 cm³

Laisser à la température du laboratoire pendant environ 15 minutes (l'iodure de potassium joue le rôle de catalyseur de la réaction acide periodique-anhydride arsénieux). Verser à la burette une solution d'iode N/10 jusqu'à teinte jaune, ou, si l'on ajoute à la fin du dosage quelques gouttes d'empois d'amidon, jusqu'à virage de l'amidon.

On obtient ainsi trois volumes x d'iode consommé :

erlenmeyer 1 : x 1

" 2 : x 2

" 3 : x 3

Le premier volume x 1 représente le titrage de la solution d'acide periodique employée. Si cette solution est exactement N/10, on versera 15 - 10 = 5 cm³ d'iode N/10. En réalité cette solution n'est pas toujours exacte, d'où la nécessité d'un témoin.

Dans le deuxième erlenmeyer, l'acide periodique ayant oxydé 9 mg. d'inositol, a partiellement disparu. Il restera donc une quantité plus grande de solution d'anhydride arsénieux inemployée que dans l'erlenmeyer 1; cette quantité sera donné par X 2. La différence X 2 - X 1 = n indiquera donc le volume d'acide periodique N/10 consommé par 9 mg. d'inositol.

Dans l'exemple étudié, une molécule d'inositol (180 g.) consomme environ 6,5 atomes d'oxygène (65.000 cm³ de solution N/10 d'acide periodique). 18 mg d'inositol demandent donc pour leur oxydation 6,5 cm³ d'acide periodique N/10. La quantité d'acide periodique utilisée (10 cm³) suffit pour oxyder environ 20 mg. d'inositol, car l'acide periodique doit toujours être en excès.

Dans le 3ème erlemeyer, où, nous venons de le voir, le poids d'inositol ne doit pas dépasser 20 mg., le raisonnement employé pour le 2ème erlemeyer s'applique intégralement. La différence $X_3 - X_1$ à n' représente le volume d'acide periodique N/10 consommé par le poids inconnu d'inositol. Une simple règle de trois donnera ce poids :

$$p = \frac{9 \times n'}{n}$$

Les chiffres suivants ont été effectivement obtenus :

$$X_1 = 4,9 \text{ cm}^3$$

$$X_2 = 8,2 \text{ cm}^3$$

$$X_3 = 11,8 \text{ cm}^3$$

On obtient :

$$X_2 - X_1 = n = 8,2 - 4,9 = 3,3$$

$$X_3 - X_1 = n' = 11,8 - 4,9 = 6,9$$

$$p = \frac{9 \times n'}{n} = \frac{9 \times 6,9}{3,3} = 18,8 \text{ mg.}$$

Effectué ainsi, tout dosage d'inositol en solution pure devient rapide et précis, et ne nécessite que des réactifs et du matériel existant dans tout laboratoire.

Malheureusement, si, en même temps que l'inositol, existe un autre composé oxydable par l'acide periodique, le dosage devient entièrement inexact, et, aucune propriété spécifique de l'inositol n'étant mise en évidence, il est impossible de s'apercevoir de l'erreur commise.

C'est pour obvier à cet inconvénient que nous avons été amenés à effectuer nos dosages d'inositol suivant une technique très différente, dans laquelle toute consommation d'acide periodique non imputable à l'inositol seul est aussitôt visible.

CHAPITRE III.

DOSAGE MANOMETRIQUE DE L'INOSITOL

Le principe de cette méthode utilise les observations de Mme Y. FIEVET-GUINARD [9] .

Cet auteur a étudié le dégagement de gaz carbonique, produit lors de l'oxydation de l'inositol par l'acide periodique; il a montré notamment que ce dégagement se poursuit pendant 4 jours, et n'est total qu'après ce laps de temps.

Comme pour le dosage précédemment étudié, nous avons cherché à diminuer le temps nécessaire en opérant en présence d'un témoin. Une durée d'oxydation de quatre heures nous a semblé particulièrement favorable, pour les motifs que nous exposerons plus loin.

De plus, cette méthode permet de mettre en évidence l'inositol même, et de déceler toute impureté gênante. En effet, nous effectuerons la mesure de gaz carbonique dégagé à l'appareil manométrique de WARBURG [10] ; il nous sera alors possible de dresser une courbe représentant le dégagement de gaz carbonique en fonction du temps. La courbe donnée par l'inositol sera ainsi caractéristique de ce corps. Toute courbe qui ne peut être superposable à l'aide d'un changement de coordonnées, à une courbe-type, donnée par l'inositol pur, nous indiquera donc une perturbation, et un résultat erroné.

Nous allons exposer successivement :

- L'emploi de l'appareil de Warburg;
- le dégagement de gaz carbonique obtenu par action de l'acide periodique sur l'inositol en fonction du temps;
- le dosage proprement dit.

A - L'APPAREIL DE WARBURG.

L'appareil de WARBURG fut employé pour l'étude de l'action de l'acide periodique sur l'inositol par Mme Y. FIEVET-GUINARD.

Nous avons donné la préférence à cet appareil, car il est d'un emploi simple, donne des résultats suffisamment précis, et permet, à tout instant, de connaître le volume de gaz carbonique dégagé.

Sa description, son étalonnage et sa marche ont été exposés en détail par Mme Y. FIEVET-GUINARD [11] . Nous n'y reviendrons donc pas

Une simplification est à noter : la connaissance du volume absolu de gaz carbonique dégagé ne nous sera d'aucune utilité; nous opérons toujours en présence d'une solution témoin titrée d'inositol. Si donc, comme l'indique Mme FIEVET-GUINARD, nous rapportons toutes les dénivellations lues à un volume théorique standard de 20 cm^3 pour tous les flacons, les dénivellations ainsi rectifiées seront comparables entre elles, et une simple règle de trois permettra d'effectuer le dosage.

B - LA COURBE DE DEGAGEMENT.

En opérant à la température de 30° , nous avons cherché à dresser la courbe des dénivellations produites dans les manomètres de WARBURG en fonction du temps, lors de l'action de l'acide periodique sur l'inositol.

Pour ce faire, les essais suivants ont été effectués :

Des solutions, à des titres variant de $0,10\text{ mg}$ à 2 mg . d'inositol par cm^3 , ont été établies à l'aide des cinq échantillons d'inositol en notre possession; nous avons effectué des essais croisés avec ces solutions, en comparant entre elles soit des solutions à des titres variables d'un même échantillon, soit des solutions au même titre d'échantillons différents.

1 cm^3 de la solution d'inositol choisie était introduite dans le flacon du manomètre, et 1 cm^3 d'acide periodique $\text{N}/2$ dans l'ampoule latérale; les dénivellations étaient lues de 30 minutes en 30 minutes, et corrigées pour être rapportées à un flacon standard de 20 cm^3 .

Tous les résultats de tous les essais ont été composés. Les cinq échantillons d'inositol se sont montrés équivalents à concentration semblables; les différences entre deux dénivellations étaient soit nulles, soit au maximum de 1 mm . Le calcul d'une dénivellation moyenne applicable à un échantillon quelconque d'inositol était donc justifié.

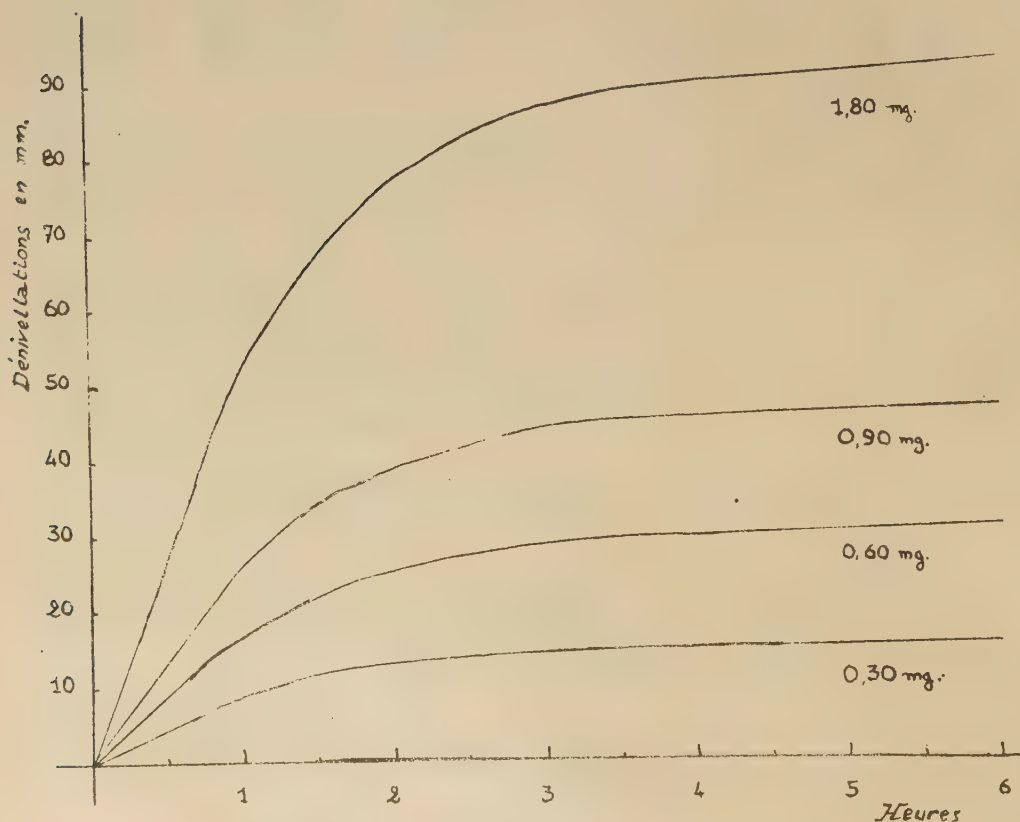
D'autre part, la proportionnalité entre les dénivellations et les concentrations en inositol a toujours été respectée.

Nous avons donc pu dresser, pour la température de 30° le tableau suivant à deux entrées, donnant la dénivellation de diverses concentrations en inositol en fonction du temps.

Heures	mg. d'inositol dans 1 cm ³ en expérience					
	0,30	0,36	0,45	0,60	0,90	1,80
1	9	10,8	13,5	18	27	54
1,30	11,5	13,8	17,2	23	34,5	69
2	13	15,6	19,5	26	39	78
2,30	14	16,8	21	28	42	84
3	14,7	17,6	22	29,3	44	88
3,30	14,9	17,8	22,3	29,7	44,5	89
4	15	18	22,5	30	45	90
6	15,3	18,4	23	30,6	46	92

Dénivellations en mm.

Ce tableau peut être remplacé par les courbes suivantes :



On remarque facilement que toutes ces courbes peuvent être superposées par changement de l'échelle de l'axe des ordonnées, et former une courbe-type.

La forme de cette courbe-type est caractéristique de l'inositol. Elle nous montre de plus que le temps optimum nécessaire pour effectuer par cette méthode un dosage d'inositol sera de 4 heures; en prolongeant les mesures les dénivellations n'augmentent plus que dans de faibles proportions.

C - DOSAGE de l'INOSITOL.

La solution à doser devra contenir plus de 0,1 mg. d'inositol par cm^3 , et moins de 2 mg. Plusieurs manomètres de Warburg seront employés simultanément pour ce dosage. Chacun d'eux recevra 1 cm^3 de la solution à doser dans le flacon central, et 1 cm^3 de la solution N/2 d'acide periodique dans l'ampoule latérale.

Les manomètres seront plongés dans le thermostat réglé à 30° pendant au moins 20 minutes avant le début de l'essai. Les mélanges des deux solutions, les robinets fermés, marque le commencement du dosage. Le mécanisme agitateur de l'appareil de WARBURG sera maintenu en marche pendant 4 heures. Toutes les 30 minutes, on note la dénivellation existant dans chaque manomètre; il est inutile pour cela d'interrompre l'agitation. Les chiffres obtenus seront ramenés au volume standard de 20 cm^3 ; et on effectuera leur moyenne.

Ces résultats permettent de tracer la courbe des dénivellations en fonction du temps. D'après la dénivellation atteinte à la 4^{ème} heure, par une simple règle de trois, on peut savoir la quantité d'inositol existant par 1 cm^3 de la solution à doser. La courbe théorique pour cette quantité d'inositol doit se superposer à la courbe obtenue, si l'inositol a bien été le seul corps dégageant du gaz carbonique sous l'action de l'acide periodique.

La précision de ce dosage dépend évidemment de l'importance de la dénivellation obtenue. Pour l'améliorer, il est nécessaire d'effectuer simultanément plusieurs essais, et d'en prendre la moyenne. Dans ces conditions on peut estimer l'erreur absolue maximum commise à la lecture de la dénivellation, à 0,5 mm. Une solution renfermant 0,9 mg?

d'inositol par cm^3 (solution $\frac{M}{200}$) sera donc dosée avec une erreur maximum de $\frac{1}{88}$, soit 1,1 pour 100; avec une solution à 0,30 mg. d'inositol par cm^3 , l'erreur relative atteindra $\frac{1}{30}$, soit 3,3 pour 100

CONCLUSIONS.

Nous avons retenu deux dosages de l'inositol:

Une méthode volumétrique très simple, rapide, précise, ne nécessitant pas d'appareillage, mais qui par son manque de spécificité, peut amener des erreurs indiscernables si l'inositol n'est pas seul en solution.

Une méthode manométrique, rapide, relativement simple, moins précise que la méthode précédente, nécessitant l'emploi d'un appareil de WARBURG, mais présentant une spécificité très satisfaisante.

Il importe cependant de remarquer, que, comme l'a montré Madame Y. FIEVET-GUINARD, l'acide périodique agit d'une façon identique sur les divers inositols. Il en est peut-être de même pour leurs éthers méthyliques (pinitol, quebrachitol, etc...) et les cyclitols voisins, tels que le quercitol et le viburnitol (1).

Ces réserves montrent les limites de la spécificité de la méthode que nous préconisons.

(1) - Des recherches en cours dans ce même laboratoire semblent montrer que, tout au moins pour le quercitol, les courbes de dégagement de gaz carbonique sont sensiblement différentes de celles de l'inositol (P. FLEURY et J. BORY).

IIème PARTIE.

DOSAGE de l'INOSITOL en PRESENCE de GLUCIDES.

CHAPITRE 1.

LES TRAVAUX ANTERIEURS.

Le dosage chimique de l'inositol en présence de glucides n'a pas encore reçu de solution entièrement satisfaisante. En effet, les essais effectués pour précipiter sélectivement l'inositol d'une solution contenant également des glucides ont échoué : les glucides se trouvent toujours plus ou moins entraînés en même temps que l'inositol.

Quelques précipitations communes de ce genre seront étudiées dans la troisième partie de ce travail.

Aussi, très longtemps on s'est contenté d'isoler l'inositol par cristallisations successives et de le peser. La méthode était longue et les pertes en inositol importantes.

Pour résoudre le problème ainsi posé, on a donc essayé, dans un mélange de glucides et d'inositol de détruire sélectivement les glucides; l'inositol serait ensuite dosé en utilisant l'une des deux méthodes déjà connues, soit par l'iodomercurate, soit par l'acide periodique.

Deux solutions sont possibles pour détruire les glucides : une méthode biochimique utilisant la levure de bière, et une méthode chimique.

La méthode biochimique, d'apparence simple, est en réalité complexe. En effet, la levure de bière utilisée pour la fermentation des glucides, si elle respecte l'inositol, apporte elle-même une certaine quantité d'inositol. Il est donc nécessaire de titrer au préalable l'inositol de la levure. De plus, il se produit lors de la fermentation, du glycérol, corps oxydable par l'acide periodique. Malgré les inconvénients résultant de l'utilisation d'un réactif biochimique, donc éminemment variable, cette méthode a été appliquée par PLATT et GLOCK [12] au dosage de l'inositol des tissus animaux. Ces auteurs utilisent en effet une race particulière de levure ne renfermant pas d'inositol, et

apportent, au dosage par l'acide periodique, des corrections nécessitées par le glycérol. Cette méthode n'est cependant pas parfaitement spécifique.

La destruction chimique des glucides, tout en respectant l'inositol, a été étudiée par Mademoiselle M. JOLY [13] : c'est l'action de l'oxyde de magnésium à 100°, dans des conditions déterminées, qui est utilisée; l'inositol n'est pas attaqué; il est ensuite dosé par réduction de l'acide periodique. Mais les produits résultant de l'action de l'oxyde de magnésium sur les glucides réduisent eux aussi l'acide periodique. Des corrections sont donc nécessaires. - Ces corrections ne peuvent être établies qu'en étudiant la réduction de l'acide periodique par les produits résultant de la destruction par la magnésie d'une quantité connue d'un glucide déterminé. Il est donc nécessaire de savoir exactement quels sont les glucides existant dans la solution à doser, et en quelles quantités ils s'y trouvent. Cette méthode n'est guère applicable à une solution renfermant des glucides divers; de plus, les corrections deviennent beaucoup trop importantes si le poids de glucides dépasse beaucoup celui de l'inositol. Enfin, comme dans la méthode de PLATT et GLOCK, l'inositol n'est pas mis en évidence, et le dosage, de ce fait, ne possède plus une spécificité suffisante.

Pour accroître la spécificité de ces dosages d'inositol nous avons cherché à le doser non plus seulement par la réduction de l'acide periodique, mais par le dégagement de gaz carbonique qu'il donne sous l'action de ce réactif. Le volume de gaz carbonique est mesuré à l'appareil de WARBURG, suivant la technique étudiée en 1ère partie. Les mesures de volume pouvant se faire de façon continue, il est possible de tracer la courbe du volume de gaz carbonique dégagé en fonction du temps; nous avons vu que la forme de la courbe ainsi obtenue est constante et caractéristique de l'inositol, avec les réserves indiquées plus haut.

Si donc dans un extrait d'une solution à doser nous obtenons par action de l'acide periodique une courbe de dégagement du gaz carbonique en fonction du temps semblable à la courbe obtenue avec une solution d'inositol pur, nous aurons une matérialisation de la présence de l'inositol.

Mais une difficulté se présente aussitôt : les produits résultant de la destruction des glucides par l'oxyde de magnésium donnent un dégagement de gaz carbonique sous l'action de l'acide periodique.

D'après la terminologie adoptée par Mademoiselle M. JOLY, nous désignerons désormais ces produits sous le nom de "glucides résiduels", bien que, comme nous le verrons, ils ne contiennent que fort peu de glucides.

Ces "glucides résiduels" devront être éliminés avant le dosage de l'inositol; l'étude de leur élimination fera l'objet du chapitre 3.

Nous avons donc maintenant les grandes lignes du dosage de l'inositol, que nous allons étudier :

Destruction des glucides par l'oxyde de magnésium;

Élimination des "glucides résiduels";

Dosage de l'inositol à l'appareil de WARBURG par mesure du gaz carbonique dégagé sous l'action de l'acide periodique.

CHAPITRE II.

DESTRUCTION des GLUCIDES par l'OXYDE de MAGNESIUM.

1° DESCRIPTION de la TECHNIQUE EMPLOYEE

Nous utilisons la technique étudiée par Mademoiselle M. JOLY [14], après avoir précisé les conditions que doit remplir la magnésie employée pour obtenir des résultats constants.

Dans un erlenmeyer de 300 cm³, on introduit 30 cm³ de la solution contenant le glucide à détruire. Ces 30 cm³ doivent renfermer une quantité de glucides inférieure à 1 g. exprimée en glucose. On délaie dans l'erlenmeyer 6 g. de magnésie très légère, calcinée 90 minutes à 850° environ et conservée soigneusement à l'abri de l'humidité et du gaz carbonique dans un exsiccateur à potasse. La fiole est plongée aussitôt jusqu'au col dans un bain-marie bouillant fortement, et reliée à un réfrigérant ascendant. L'ébullition est maintenue 30 minutes. La fiole est alors retirée du bain-marie et refroidie. La bouillie magnésienne est devenue d'autant plus brunâtre que le liquide initial contenait plus de glucides. On verse dans la fiole une quantité connue d'eau distillée pour déliter la bouillie magnésienne, et l'on porte à l'agitateur mécanique pendant environ 2 heures; la suspension ainsi obtenue est centrifugée : on obtient une solution L, ne renfermant plus qu'une très faible quantité de glucides résiduels.

2° JUSTIFICATION de la TECHNIQUE EMPLOYEE.

L'étude des divers facteurs influant sur la réaction a été poursuivie en utilisant une solution renfermant 1 g. de glucose par 30 cm³. Le dosage des glucides résiduels de la solution L a été effectué par la méthode de LEHMANN, modifiée par FLEURY et BOUTOT [15]. Connaissant la quantité X de glucides résiduels dans 1 cm³ de la solution L, la quantité totale restant après action de l'oxyde de magnésium sera : $X(30 + a)$, si a est le nombre de cm³ d'eau distillée ajoutée. On en déduit facilement le pourcentage de glucides détruits.

Tous les chiffres donnés ci-dessous sont des moyennes de plusieurs résultats, différant entre eux de moins de 1 p.100.

A. Influence de la qualité de la magnésie employée.

Trois échantillons de magnésie ont été utilisés :

Echantillon 1 : magnésie assez lourde, en poudre grossière.

Echantillon 2 : magnésie légère courante.

Echantillon 3 : magnésie très légère, en poudre impalpable.

Tous les autres facteurs étant identiques, les résultats obtenus ont été :

Echantillon	Pourcentage de glucose détruit
1	97,1
2	97,8
3	99,1

B. Influence de la température de calcination de la magnésie.

La magnésie livrée par le commerce doit être recalcinée à haute température. Nous avons utilisé dans ce but un four électrique.

Pour une durée de calcination de 3 heures, les quantités de glucose détruit en fonction de la température ont été les suivantes :

Température	Pourcentage de glucose détruit
500°	92,1
750°	98
850°	99,2

La nécessité de cette calcination à haute température semble liée à un changement physique de la magnésie, résultant d'une déshydratation totale. P. JOLIBOIS et M. BERGER [16] ont en effet montré que la déshydratation de la magnésie commence à 340°, mais n'est totale qu'à 800°.

C. Influence de la durée de la calcination.

Dans le même four électrique que précédemment, porté à 850°, nous avons calciné des échantillons d'une même magnésie pendant des

temps variables. Ces échantillons détruisaient ensuite le glucose dans les proportions suivantes :

Durée de la calcination	Pourcentage de glucose détruit
30 minutes	98,3
1 heure	99,1
3 heures	99,2

Nous avons donc adopté une calcination de 90 minutes à 850°.

Ces conditions physiques de la magnésie ayant une grande importance, il est nécessaire d'en constituer une réserve suffisante; après calcination convenable, on étudie son pouvoir destructeur vis-à-vis des glucides. Calcinée dans les mêmes conditions, son activité sera ensuite toujours la même.

Chaque fois que l'on utilisera une nouvelle qualité de magnésie, il sera indispensable d'en vérifier l'activité.

D. Influence de la durée d'immersion de l'erlemeyer dans le bain-marie.

Nous avons utilisé les échantillons n° 1 et 3 de magnésie; les résultats obtenus sont :

Echantillon	Durée d'immersion	Pourcentage de glucose détruit
1	30 minutes	96,6
1	1 heure	98,7
3	30 minutes	99,1
3	1 heure	99,3

Avec un échantillon satisfaisant de magnésie une immersion de 30 minutes est donc suffisante.

E. Influence de la quantité de magnésie utilisée.

La quantité de magnésie de 6 g. par 30 cm³ de liquide est nécessaire. Une réduction de cette quantité entraîne une baisse de

pourcentage de glucose détruit :

Magnésie en grammes pour 30 cm ³ de solution	pourcentage de glucose détruit
6	99,2
4	91,7

3° RESULTATS OBTENUS.

Après sélection d'une bonne qualité d'oxyde de magnésium, on obtient de façon constante les résultats suivants avec divers glucides :

Glucose, lévulose : destruction de 99 à 99,3 p.100.

Lactose : la destruction de 2 g. de lactose dissous dans 30 cm³ d'eau s'effectue dans la proportion de 96 à 98 p.100.

Maltose : dans les mêmes conditions que le lactose, la destruction atteint seulement 89 à 91 p.100 du maltose introduit.

Un mélange de glucides se comporte comme un glucide unique.

4° ACTION DE L'OXYDE DE MAGNESIUM A L'EBULLITION SUR L'INOSITOL.

Comme l'avait déjà montré Mademoiselle M. JOLY, l'inositol n'est pas attaqué par la magnésie à l'ébullition. Nous l'avons vérifié sur des essais, dans lesquels 9 mg. d'inositol, dissous dans 15 cm³ d'eau, étaient soumis à l'action de 3 g. de magnésie au bain-marie pendant une heure.

L'inositol a ensuite été dosé par la méthode manométrique. Tout l'inositol introduit a bien été retrouvé.

5° ETUDE DES "GLUCIDES RESIDUELS".

Mademoiselle M. JOLY a longuement étudié ces "glucides résiduels". Elle a montré notamment qu'ils possédaient un pouvoir réducteur important vis-à-vis de l'acide periodique.

Nous avons cherché si l'action sur eux de l'acide periodique conduisait à un dégagement de gaz carbonique, et quel était l'importance

de ce dégagement en fonction du temps.

Pour cela, après action de 6 g. de magnésie au bain-marie bouillant sur 1 g. de glucose ou de lévulose en solution dans 30 cm³ d'eau, le magma magnésien a été additionné de 70 cm³ d'eau distillée. Après agitation et centrifugation, chaque centimètre-cube de solution contient les "glucides résiduels" provenant de 0,01 g. de glucose ou de lévulose.

Cette solution est diluée au 1/5ème, et 1 cm³ de cette dilution est mis en contact avec 1 cm³ d'acide periodique N/2 dans un manomètre de WARBURG.

Les dénivellations du liquide de BRODIE en fonction du temps sont les suivantes.

Temps	Dénivellations en mm. données par les "glucides résiduels" de 2 mg. de :	
	Glucose	Lévulose
1 heure	1	2
2 "	2,5	4
3 "	3,5	6
4 "	5	9
1 jour	19	27

Les dénivellations sont donc importantes; pendant les premières heures, elles sont approximativement proportionnelles au temps.

Si l'on veut doser manométriquement une solution d'inositol en présence de "glucides résiduels", il sera donc nécessaire d'éliminer au préalable ces "glucides résiduels". C'est ce problème que nous allons étudier dans le chapitre III.

CHAPITRE III.

ELIMINATION DES "GLUCIDES RESIDUELS"

Nous sommes en présence d'une solution contenant inositol et "glucides résiduels". Sous l'action de l'acide periodique, ces deux produits donnent un dégagement de gaz carbonique mesurable à l'appareil de WARBURG. Il est donc nécessaire d'éliminer les "glucides résiduels" si l'on veut doser l'inositol.

Après de multiples essais, nous sommes arrivés à une technique qui est un compromis entre d'une part une technique éliminant tous les "glucides résiduels" mais entraînant en même temps une quantité non négligeable d'inositol, et d'autre part une technique n'éliminant que partiellement les "glucides résiduels", mais conservant tout l'inositol.

Ce compromis a été rendu possible par le fait que l'inositol peut être dosé avec une précision suffisante par la méthode manométrique en quatre heures. Pendant ce laps de temps, le dégagement de gaz carbonique dû aux "glucides résiduels" persistent encore après l'élimination peut être considéré comme négligeable. De plus, la forme de la courbe de dégagement permet d'identifier l'inositol, la courbe provenant des "glucides résiduels" étant en effet très différente.

La première condition de ce dosage sera donc une élimination suffisante des "glucides résiduels".

1° TECHNIQUES DIVERSES D'ELIMINATION DES "GLUCIDES RESIDUELS".

Ces "glucides résiduels" sont constitués de corps fort différents, très complexes, au nombre desquels se trouvent des acides organiques, et, en particulier, de l'acide lactique. Pour les éliminer nous avons envisagé deux sortes de techniques :

Précipitation;
Extraction par un solvant convenable.

A. - Elimination par précipitation.

Nous avons essayé de précipiter les "glucides résiduels" à

l'état de sels plombiques, par addition d'une solution d'acétate neutre de plomb; nous n'avons pas obtenu de résultats.

De même, nous avons essayé de les précipiter à l'état de sels mercuriques, par action d'une solution sulfurique de sulfate mercurique, avec neutralisation ultérieure de l'acide sulfurique par la soude; dans ces conditions, il se formait un précipité, mais le liquide clair, après centrifugation, donnait un dégagement de gaz carbonique à l'appareil de WARBURG comparable à celui obtenu avec la solution contenant les "glucides résiduels".

B. - Elimination par extraction.

Nous avons d'abord cherché à extraire les "glucides résiduels" de leur solution par l'éther, dans une ampoule à décantation, après acidification convenable. D'application délicate en raison des petits volumes de solutions manipulées, cette méthode ne nous a pas donné de résultats satisfaisants.

Par contre, nous avons retenu la méthode suivante, où la solution contenant les "glucides résiduels" est évaporée à sec, et où le résidu ainsi obtenu est traité par un solvant convenable.

2° DESCRIPTION de la TECHNIQUE ADOPTÉE.

Un volume connu de la solution provenant de la destruction des glucides par la magnésie, environ 10 à 15 cm³, que nous appellerons solution L, est versé dans un tube à centrifuger conique; ce tube est plongé dans un bain-marie bouillant. On accélère l'évaporation de la solution en amenant à la surface du liquide à l'aide d'un tube effilé un léger courant d'air.

Cet air est produit par une trompe soufflante; il est desséché par barbotage dans un flacon contenant de l'acide sulfurique, et réchauffé par passage dans un serpentin immergé dans le bain-marie. Quand il ne reste plus qu'un ou deux centimètres-cubes de liquide à évaporer, on ajoute dans le tube de centrifugeur 0,30 g. de sulfate de sodium anhydre - On termine l'évaporation. Le tube de centrifugeur est alors porté quelques heures dans une étuve à 100° pour parfaire la dessiccation. Il importe en effet que la dessiccation soit aussi parfaite que possible. On détache à l'aide d'un agitateur fin à bout non rodé tout le résidu fixé sur les parois du tube de centrifugeur; ce résidu est rassemblé dans la pointe du tube de centrifugeur, et broyé en poudre aussi fine que possible à l'aide de l'agitateur.

La présence de sulfate de sodium ajouté précédemment permet de détacher facilement des parois du tube le résidu sec, et de le broyer finement; en l'absence de sulfate de sodium, le résidu se présenterait comme une pellicule gommeuse très adhérente aux parois, pratiquement impossible à bien diviser.

Sur ce résidu sec, on verse le mélange suivant, préalablement effectué dans une petite éprouvette à pied.

Alcool absolu	2 cm ³
Ether sulfurique	8 cm ³
Acide sulfurique pur	X gouttes
Solution de violet de méthyle à 0,50 p.100	1 goutte

Avec un agitateur fin, on met la poudre en suspension dans le liquide; le violet de méthyle doit avoir viré au vert. S'il n'en était pas ainsi, on devrait ajouter une quantité suffisante d'acide sulfurique pur pour obtenir ce virage. Pour activer la dissolution dans le mélange alcool-ether des "glucides résiduels", on porte le tube quelques instants au bain-marie, jusqu'à ébullition de l'éther. Puis, on le bouche et on agite vivement. La poudre se décolore progressivement, le liquide surnageant se colorant plus ou moins.

Quand la poudre ne se décolore plus, le tube de centrifugeur bouché est porté à la glacière. On l'y laisse 15 à 20 heures.

A l'expiration de ce délai, le tube est centrifugé rapidement. On rejette le liquide étheré surnageant - On verse sur le culot quelques centimètres-cubes d'eau, et on plonge le tube de centrifugeur dans un bain-marie bouillant, pendant environ 5 minutes, pour chasser tout l'alcool et tout l'éther pouvant y exister, et dont la présence constituerait une cause d'erreur très importante dans le dosage à l'appareil de WARBURG.

Le résidu est dissous dans le minimum d'eau possible, la solution est versée dans une petite éprouvette à pied; on lave le tube et joint les eaux de lavage dans l'éprouvette. - On complète à un volume connu.

Un centimètre-cube de cette solution est mis en présence dans l'appareil de WARBURG avec 1 cm³ d'acide periodique N/2. La présence de sulfate de sodium à concentration assez forte dans la solution que l'on mélange avec l'acide periodique dans le flacon laboratoire de l'appareil de WARBURG entraîne une diminution de solubilité de l'air contenu dans la solution d'acide periodique; il se produit alors une légère dénivellation atteignant 2 à 4 mm. Pour revenir à des conditions

normales, il convient d'ouvrir les robinets de tous les manomètres, réaction et témoin, quatre minutes après le début de l'essai, pour égaliser les hauteurs de liquide de BRODIE; les robinets sont alors fermés définitivement. Pendant les quatre premières minutes en effet, même en présence d'inositol, il ne se produit pas de dégagement gazeux notable.

3° JUSTIFICATION de la TECHNIQUE ADOPTÉE.

A - ELIMINATION des "GLUCIDES RESIDUELS".

Tous les essais ci-dessous ont été effectués en utilisant une solution L, provenant de la destruction de 1 g. de glucose, dissous dans 30 cm³ d'eau, par 6 g. d'oxyde de magnésium; la masse pâteuse étant additionnée de 80 cm³ d'eau (volume total : 30 + 80 = 110 cm³. 10 cm³ de cette solution L sont ensuite traités dans un tube de centrifugeur.

Ces 10 cm³ contiennent donc les "glucides résiduels" provenant de la destruction de $1 \times 10 \div 110 = 0,09$ g. de glucose.

Après évaporation à sec et extraction par le solvant, le résidu est repris par 10 cm³ d'eau distillée; l'essai à l'appareil de WARBURG s'effectuant sur 1 cm³, ce centimètre-cube de solution contiendra donc les "glucides résiduels" provenant de la destruction magnésienne de 9 mg. de glucose qui n'auront pas été enlevés par l'extraction.

a - Influence de la proportion d'alcool dans le mélange extractif.

Ces essais ont été effectués sans acidification du mélange extractif.

Composition du mélange extractif	Dénivellations en mm. du liquide de BRODIE				
	1 ^H	2 ^H	3 ^H	4 ^H	3 jours
1 vol. d'alcool 9 vol. éther	0	1	1	1	48
2 vol. alcool 8 vol. éther	0	0	1	1	32
3 vol. alcool 7 vol. éther	0	0	0	0	21

L'alcool favorise donc l'extraction des "glucides résiduels". Le mélange extractif devra en contenir la plus grande quantité compatible avec une faible perte d'inositol.

b - Influence de l'éther de pétrole dans le mélange extractif.

En suivant exactement la technique indiquée ci-dessus, les dénivellations obtenues au bout de 4 heures et de 48 heures sont les suivantes :

Composition du mélange extractif	Dénivellations en mm. du liquide de BRODIE :	
	Au bout de 4 ^h	Au bout de 48 ^h
2 cc. alcool 8 cc. éther sulfurique	0	5
2 cc. alcool 8 cc. éther sulfurique 12 cc. éther de pétrole	3	11

La présence d'éther de pétrole, loin de favoriser l'extraction, la gêne partiellement.

c - Influence de l'acidité du milieu extractif.

Pour obtenir une bonne extraction des "glucides résiduels", le liquide extractif doit avoir une acidité très forte, voisine de p^H : 1. Le tableau ci-dessous le montre nettement :

p ^H du liquide extractif	Dénivellation en mm. du liquide de BRODIE :	
	Au bout de 4 h.	Au bout de 48 h.
7	1	30
4	0,5	8
1	0	5

Cette acidité nécessaire justifie l'emploi du violet de méthyle comme indicateur.

B. PERTE EN INOSITOL.

L'inositol, insoluble dans l'éther anhydre, est légèrement soluble dans l'alcool et très soluble dans l'eau. La perte en inositol

sera donc d'autant plus réduite que l'extraction des "glucides résiduels" s'effectuera à l'aide d'un mélange moins aqueux et moins alcoolique. D'où la nécessité de dessécher totalement le résidu au bain-marie puis à l'étuve à 100°. De plus, la solubilité de l'inositol diminuant rapidement à froid, les tubes de centrifugeur, une fois l'extraction terminée, seront portés à la glacière.

Nous avons vu ci-dessus qu'un mélange extractif comprenant deux volumes d'alcool absolu et huit volumes d'éther sulfurique donnait des résultats satisfaisants. Il est possible de déterminer la solubilité de l'inositol dans un tel mélange. A cet effet, on effectue des extractions, suivant la technique exposée ci-dessus, sur un résidu sec de sulfate de soude contenant un poids connu d'inositol. L'inositol restant est ensuite dosé par réduction d'une solution titrée d'acide periodique.

Les résultats obtenus par cette méthode sont les suivants :

Inositol introduit en mg	Inositol retrouvé en mg	Inositol perdu en mg
0,30	0,20	0,10
0,40	0,26	0,14
0,50	0,33	0,17
0,60	0,40	0,20
0,70	0,46	0,24
0,80	0,53	0,27
0,90	0,62	0,28
1	0,70	0,30
1,20	0,88	0,32
> 1,20	> 0,88	0,32

Pour de faibles quantités d'inositol, la perte n'atteint pas la saturation en inositol du mélange extractif. Cette saturation n'est atteinte qu'en présence d'au moins 1,20 mg d'inositol.

4° RESULTATS OBTENUS.

Nous avons vu à la page 26 que les dénivellations en mm. données au manomètre de WARBURG par les "glucides résiduels" de 2 mg. de glucose détruit sont les suivantes, en fonction du temps :

Temps en heures	Dénivellations en mm.
1	1
2	2,5
3	3,5
4	5
24	19

En rapportant ces dénivellations à 9 mg de glucose détruit, et en les comparant aux dénivellations obtenues, pour le même chiffre 9 mg, après extraction par le mélange 2 cm³ alcool + 8 cm³ éther, nous obtenons le tableau suivant :

Temps en heures	Dénivellations en mm	
	Sans extraction	Avec extraction
1	4,5	0
2	11	0
3	16	0
4	22	0
24	85	3

La proportion de "glucides résiduels" restant est donc de :

$$\frac{3 \times 100}{85} = 3,5 \text{ p.100}$$

D'autre part, cette extraction nous a fait perdre un poids d'inositol, qu'il nous est possible de connaître ne dépassant pas 0,32 mg. Le résultat obtenu devra être corrigé par addition de ce poids.

CHAPITRE IV.

DOSAGE DE L'INOSITOL en PRESENCE de GLUCIDES.

Les résultats obtenus auparavant vont nous permettre d'effectuer ce dosage. Nous aurons à réaliser la suite des opérations suivantes :

1° Destruction des glucides par l'oxyde de magnésium à 100°;

2° Elimination de la majeure partie des "glucides résiduels" par extraction avec l'éther-alcool acide;

3° Dosage différentiel manométrique de l'inositol en présence de la faible quantité de "glucides résiduels" restant.

Après avoir décrit cette technique, nous établirons les conditions que doit remplir la solution d'inositol pour que ce dosage soit possible, et nous indiquerons les résultats obtenus.

1° DESCRIPTION DE LA TECHNIQUE.

Une prise d'essai de la solution à doser est introduite dans un erlenmeyer d'une capacité dix fois plus élevée. Soit $b \text{ cm}^3$ le volume de la prise d'essai (d'un ordre de grandeur de 15 à 30 cm^3). On y délaie rapidement 1 g de magnésie calcinée (1) par 5 cm^3 de solution, et porte aussitôt dans un bain-marie bouillant. L'erlenmeyer est relié à un réfrigérant ascendant - On laisse trente minutes au bain-marie.

L'erlenmeyer étant retiré du bain-marie, on lui ajoute un volume d'eau distillée exactement mesuré. Soit $c \text{ cm}^3$ ce volume (15 à 30 cm^3). On délite la bouillie magnésienne, et porte la fiole sur un agitateur mécanique pendant quelques heures. On peut au besoin agiter à la main, et laisser en contact suffisamment longtemps.

La bouillie magnésienne est centrifugée. On obtient ainsi la solution L. Cette solution est d'un volume total de $b + c \text{ cm}^3$, dont une partie est absorbée par la magnésie.

Dans un tube conique de centrifugeur, on mesure exactement un volume $d \text{ cm}^3$ (10 à 15 cm^3) de solution L.

(1) Voir page 23 pour les conditions de la calcination.

Ce tube est plongé dans un bain-marie bouillant. On accélère l'évaporation de la solution en amenant à la surface du liquide à l'aide d'un tube effilé un léger courant d'air. Cet air est produit par une trompe soufflante; il est desséché par barbotage dans un flacon contenant de l'acide sulfurique, et réchauffé par passage dans un serpentin immergé dans le bain-marie.

Quand il ne reste plus qu'un ou deux centimètres-cubes de liquide à évaporer, on ajoute dans le tube de centrifugeur 0,30 g de sulfate de sodium anhydre. On termine l'évaporation.

Le tube de centrifugeur est alors porté quelques heures dans une étuve à 100° pour parfaire la dessiccation. On détache à l'aide d'un agitateur fin à bout non rodé tout le résidu fixé sur les parois du tube de centrifugeur; ce résidu est rassemblé dans la pointe du tube de centrifugeur et broyé en poudre aussi fine que possible à l'aide de l'agitateur.

Sur ce résidu sec, on verse le mélange suivant, préalablement effectué dans une petite éprouvette à pied:

Alcool absolu	2 cm ³
Ether sulfurique	8 cm ³
Acide sulfurique pur	1 gouttes
Solution de violet de méthyle	1 goutte

Avec un agitateur fin, on met la poudre en suspension dans le liquide; le violet de méthyle doit avoir viré au vert. S'il n'en était pas ainsi, on devrait ajouter une quantité suffisante d'acide sulfurique pour obtenir ce virage. Pour activer la dissolution dans le mélange alcool-ether des "glucides résiduels", on porte le tube quelques instants au bain-marie, jusqu'à ébullition de l'éther. Puis on le bouche, et on agite vivement. La poudre se décolore progressivement, le liquide surnageant se colorant plus ou moins. Quand la poudre ne se décolore plus, le tube de centrifugeur bouché est porté durant 15 à 20 heures à la glacière.

Après dentrifugation, le liquide est rejeté. On dissout le culot contenant l'inositol dans quelques centimètres-cubes d'eau distillée et porte 10 minutes au bain-marie pour chasser l'éther et l'alcool restant. On transvase le liquide du tube de centrifugeur dans une très fine éprouvette. On rince le tube de centrifugeur et joint les eaux de lavage à l'éprouvette. On complète à un volume déterminé. Soit 5 cm³ le volume obtenu (5 cm³ environ).

Un centimètre-cube de cette solution est mis en contact dans un appareil de WARGURG avec 1 cm³ d'I O₄ H N/2. On effectue plusieurs essais. On note toutes les 30 minutes pendant 4 heures, les dénivel-

lations observées.

Ces dénivellations sont rapportées à un volume standard des fioles de WARBURG de 20 cm³; on en fait la moyenne, et trace sur un papier millimétrique la courbe obtenue en notant les dénivellations en mm., en ordonnées, et les temps en heures, en abscisses. On cherche la quantité d'inositol qui aurait donné au bout de deux heures la même dénivellation que celle observée. On trace sur le même graphique la courbe des dénivellations en fonction du temps donnée par cette quantité d'inositol. Les deux courbes doivent se superposer; le dosage peut alors être admis et la quantité d'inositol contenue dans 1 cm³ de la solution finale inconnue est la même que celle existant dans 1 cm³ de la solution d'inositol pur. Si la courbe de la solution à titrer diffère notablement de celle donnée par l'inositol pur, le dosage est entaché d'erreur; il s'agit, en général, d'une élimination défectueuse des "glucides résiduels"; la courbe, après avoir présenté un certain palier, recommence à s'élever. On note alors le dernier point correspondant à la courbe de l'inositol pur, et l'on peut à la rigueur admettre comme quantité d'inositol celle correspondant à l'ordonnée de ce point.

2° CALCULS.

Soit x mg. le poids d'inositol contenu dans 1 cm³ de la solution portée au WARBURG. Cette solution ayant un volume total de e cm³, la quantité d'inositol qu'elle renferme sera e x mg.

Cette quantité provient des d cc. de liqueur L évaporés; mais, par extraction à l'alcool-éther, nous avons perdu un poids n d'inositol lu dans la 3ème colonne du tableau de la page 32, en regard du poids e x lu dans la 2ème colonne. Le poids d'inositol en mg. contenu dans d cm³ de liqueur L sera donc : ex + n. La liqueur L a un volume total de b + c cm³. L'inositol contenu dans l'ensemble de cette solution L sera :

$$\frac{ex + n(b + c)}{d}$$

C'est l'inositol que renferme la prise d'essai b cm³. Pour 1.000 cm³, la solution à doser contiendra un poids P d'inositol, exprimé en mg. de :

$$(1) \quad P = \frac{1.000 (ex + n)(b+c)}{b d}$$

3° CONDITIONS A REMPLIR PAR LA SOLUTION A DOSER.

A. Valeurs des volumes b, c, d, e.

Nous rappelons que :

x est le poids d'inositol contenu dans 1 cm³ de la solution introduite dans le WARBURG,
 b est le volume de la prise d'essai;
 c " " d'eau distillée ajouté;
 d " " de solution L évaporé;
 e " " de la solution titrée au WARBURG.

L'expression (1) peut être mise sous la forme :

$$(2) \quad x = \frac{I}{e} \left[\frac{b \cdot d \cdot P}{1000 (b + c)} - n \right]$$

D'après (2), pour un même poids P d'inositol dans 1.000 cm³ de solution à doser, x sera inversement proportionnel à e. Nous avons intérêt à ce que x soit aussi élevé que possible pour accroître la précision et la sensibilité du dosage; il faudra donc que e ait la valeur la plus réduite possible. Mais on ne peut diminuer e à l'infini car la limite de solubilité du résidu obtenu après extraction est rapidement atteinte.

D'après (2), d doit avoir la valeur la plus élevée possible; mais on ne peut extraire du mélange initial de b cm³ de solution et de magnésie qu'un volume égal ou inférieur au volume c d'eau distillée ajoutée. d sera donc d'autant plus élevé que c sera élevé.

Or x croît suivant une fonction du rapport $\frac{b}{b+c}$; c'est-à-dire que x sera d'autant plus important que b (volume de la prise d'essai) sera plus grand, et que c sera plus petit. Si l'on admet que c = d, x sera de la forme :

$$x = K \frac{b \cdot c}{b + c} - K'$$

Avec la condition d = c, on a donc intérêt à choisir c aussi élevé que possible.

Pratiquement, dans la plupart de nos essais, nous avons adopté les valeurs suivantes :

Prise d'essai	b	30 cm ³
eau distillée ajoutée	c	15 cm ³
vol. de solution évaporée	d	10 cm ³
dissolution du résidu	e	5 cm ³

Tous les raisonnements suivants seront effectués en donnant les valeurs ci-dessus aux paramètres b, c, d, e.

B. Teneur en glucose et inositol de la solution à doser.

Nous pouvons calculer la concentration maximum de glucose dans la solution à doser. En effet, nous avons vu que l'élimination des glucides résiduels par l'alcool-éther acide n'était pas totale, et qu'il en restait 3,5 p.100.

Nous savons d'autre part (page 25) que le "glucose résiduel" provenant de la destruction de 9 mg de glucose donne au bout de 4 heures une dénivellation de 22 mm. Si au bout de ces quatre heures, nous lisons une dénivellation de 1 mm, la quantité de glucose initial sera :

$$\frac{9 \times 1 \times 100}{3,5 \times 22} = 11,6 \text{ mg.}$$

Le poids en mg. de glucose existant dans 1.000 cm³ de solution à doser sera donné par la formule (3) qui dérive de la formule (1) par la suppression de la solubilité de l'inositol dans le mélange alcool-éther, solubilité ne s'appliquant plus.

$$(3) \quad p' = \frac{1000 (e \times x') (b + c)}{b \times d} = \text{poids en mg. de glucose}$$

pour 1000 cm³, en appelant x' la quantité de glucose initial existant dans 1 cm³ de la solution portée au WARBURG.

Pour 11,6 mg. nous aurons :

$$p' = \frac{1000 (5 \times 11,6) (30 + 15)}{30 \times 10} = 8.700 \text{ mg.}$$

Si nous estimons que la présence de glucose doit donner au maximum une dénivellation de 1 mm. au bout de 4 heures, la solution à doser devra contenir au plus 8,7 g. de glucose pour 1.000 cm³.

D'autre part, la plus faible quantité d'inositol dosable manométriquement est de l'ordre de 0,09 mg.; pour ce poids sa dénivellation est en effet, au bout de quatre heures, de 4,5 mm.

D'après la formule (1), la plus faible quantité d'inositol en mg. pour 1000 cm³ de solution à doser sera :

$$p'' = \frac{1000 (5 \times 0,09 + 0,24) (30 + 15)}{30 \times 10} = 103 \text{ mg.}$$

Le rapport $\frac{\text{Inositol}}{\text{Glucose}}$ sera, dans ces deux cas limites de

$$\frac{103}{8.700} = \frac{12}{1000}.$$

La solution à doser devra à la fois contenir par litre au minimum 103 mg. d'inositol, et au maximum 8,70 g. de glucose.

Si l'une de ces deux conditions seule est remplie, une dilution, si le glucose est trop abondant, ou une concentration de la solution à doser, si l'inositol est trop faible, devra permettre de remplir la deuxième condition. Si, malgré cela, les deux conditions ne sont pas satisfaites, il faut changer les valeurs des paramètres b, c, d, e. Au cas où il ne serait pas possible de fixer b, c, d, e, de façon convenable, la méthode décrite ci-dessus donnerait un résultat entaché d'une erreur non calculable.

4° ERREURS.-

A. Erreurs provenant de la quantité d'inositol existant dans la solution à doser, et du rapport $\frac{\text{inositol}}{\text{glucose}}$.

Si nous prenons les conditions limites que doit remplir la solution à doser, c'est-à-dire 8,70 g. de glucose et 103 mg. d'inositol pour 1.000 cm³, la dénivellation obtenue au manomètre au bout de 4 heures ne sera pas de 4,5 mm, mais de 5,5 mm, puisque les "glucides résiduels" auront donné 1 mm. de dénivellation. Les 5,5 mm. nous feront conclure à un poids d'inositol de

$$\frac{0,09 \times 5,5}{4,5} = 0,11 \text{ mg.}$$

par cm³ de solution dosée, soit pour 1.000 cm³ de solution initiale :

$$\frac{1000 (5 \times 0,11 + 0,27) (30 + 15)}{30 \times 10} = 123 \text{ mg.}$$

l'erreur absolue sera donc de 20 mg. d'inositol, et l'erreur relative de $\frac{20}{103} = + 19 \text{ p.100.}$

En appliquant le même raisonnement à des solutions contenant toujours 8,70 g. de glucose pour 1000 cm³, et des quantités croissantes d'inositol, nous pouvons dresser le tableau ci-dessous :

Inositol existant en mg. pour 1.000 cm ³	Rapport : <u>Inositol</u> Glucose	Inositol trouvé en mg. pour 1.000 cm ³	Erreur pour 100
103	$\frac{12}{1000}$	123	+ 19
183	$\frac{21}{1000}$	198	+ 8
318	$\frac{36}{1000}$	333	+ 5
588	$\frac{67}{1000}$	603	+ 2

B. Erreurs tenant aux lectures des dénivellations.

Si les e cm³ de solution finale obtenue servent à exécuter $e - I$ dosage sur 1 cm³ à l'appareil de WARBURG, la précision est assez bonne. On peut estimer l'erreur moyenne à 0,5 mm., dénivellation qui serait donnée par 0,01 mg. d'inositol. L'erreur absolue serait alors de 7,5 mg. d'inositol.

C. Erreur totale.

Pour les valeurs de g , c , d , e étudiées, et pour une solution contenant la limite possible du glucose, soit 8,7 g. pour 1000 cm³, l'erreur absolue maximum en mg. d'inositol pour 1000 cc. de la solution à doser sera de : $20 + 7,5 = 27,5$ mg. Pour une teneur en inositol de 103 mg. par litre, l'erreur relative maximum sera de 26 p.100. C'est l'erreur la plus grande que l'on puisse enregistrer puisque nous nous sommes placés dans le cas le plus défavorable.

5° RESULTATS OBTENUS.

En réalité, nous n'avons que rarement affaire à du glucose seul, mais plus généralement à un mélange de glucides. Les calculs ci-dessus ne s'appliqueraient donc pas intégralement. Par exemple, l'erreur due à la présence de lévulose sera plus grande que celle due à une même

quantité de glucose, car le lévulose résiduel donne un dégagement de gaz carbonique plus important que le glucose résiduel.

Les résultats des dosages ci-dessous (certains ayant été effectués sur des solutions de titre inconnu) montrent cependant que les erreurs observées pratiquement sont bien en dessous de la limite des erreurs prévues :

Inositol en mg. p ₃ 1000 cm ³	Glucide en g. p ₃ 1000 cm ³	Rapport Inositol Glucides	Inositol retrouvé en mg. p ₃ 1000 cm ³	Erreur absolue en mg.	Erreur relative p. 100
300	Glucose 8,3	$\frac{36}{1000}$	288	- 2	- 0,7
750	Glucose 8,3	$\frac{90}{1000}$	754	+ 4	+ 0,5
3000	Glucose 8,3	$\frac{360}{1000}$	2975	- 25	- 0,8
500	Lévulose 8,3	$\frac{60}{1000}$	479	- 21	- 4,4
750	Lévulose 8,3	$\frac{90}{1000}$	719	- 31	- 4,3
750	Lévulose Glucose 5,0	$\frac{150}{1000}$	730	- 20	- 2,6

III ème PARTIE

L'INOSURIE.

CHAPITRE I.

LES TRAVAUX ANTERIEURS.

Le terme "Inosurie" a été créé par GALLOIS [17] en 1864. L'inositol avait cependant été caractérisé dès 1856 par CLOETTA [18] dans l'urine d'une personne atteinte de mal de Bright; cet auteur n'avait pu en mettre en évidence dans l'urine normale. Il est donc nécessaire de distinguer l'inosurie normale et l'inosurie pathologique.

A - INOSURIE NORMALE.

La plupart des auteurs qui ont recherché l'inositol dans l'urine normale n'ont pu en mettre en évidence. Ce fut le cas de A. CLOETTA en 1856, de N. GALLOIS en 1864, de A. COCHOT [19] en 1883. HOPPE SEYLER [20] en rencontre cependant à l'état de traces. DANHARDT [21] en retire de l'urine de boeuf. En 1908, STARKENSTEIN [22] en retire également des traces dans l'urine journalière.

Le problème de l'inosurie normale reste donc entier. Il ne semble pas que des travaux aient été effectués récemment sur ce sujet.

B - INOSURIE PATHOLOGIQUE.

Ce problème a été beaucoup mieux étudié que le précédent. De nombreux auteurs ont en effet mis en évidence l'inositol dans les urines de brightiques et de diabétiques. CLOETTA [23] le premier, en effectua l'extraction. NEWKOMM [24], LEBERT [25] et VOHL [26] confirmèrent ces résultats.

Un travail d'ensemble fut effectué par GALLOIS, en 1864 [27] qui montre la présence de l'inositol dans quelques urines de diabétiques, et dans de rares cas de mal de Bright. Il ne put d'abord pas retirer d'inositol de l'urine de malade atteint de diabète insipide, puis, par la suite, en 1865, en mis en évidence [28]. De nombreux auteurs essayèrent d'élucider cette question, mais sans obtenir de résultats nets (FLEURY P. et BALATRE P. [29]).

Un nouveau travail d'ensemble fut publié par H. GEORGES en 1906 [30]. Cet auteur pense que la présence d'inositol dans les urines glucosuriques ou albumineuses n'est qu'une simple coïncidence; il le met en évidence lors de nombreuses autres affections.

G. MEILLERE et P. FLEURY [31], rencontrent l'inositol dans tous les cas de glucosurie, en utilisant une technique analytique éprouvée. Ces essais ont porté sur une centaine de cas environ. L'inosurie constatée seule doit faire prévoir une glucosurie latente.

L'inosurie semble donc liée principalement au métabolisme de l'eau, et à celui des glucides. L'inosurie au cours du mal de Bright est très controversée.

Les diverses opinions émises paraissent dues à l'absence d'une technique de dosage de l'inositol suffisamment sensible et spécifique.

Nous allons essayer d'appliquer à ce problème la technique de dosage décrite dans la deuxième partie de ce travail.

CHAPITRE II.

DOSAGE de l'INOSITOL dans l'URINE.

Nous venons de voir que l'étude de l'inosurie normale et pathologique se heurte à de grosses difficultés, par suite de l'absence d'une méthode de dosage satisfaisante. En dehors de l'extrême complexité du milieu urinaire, la faible concentration en inositol et la présence possible de glucides sont les deux obstacles les plus difficiles à surmonter.

Nous avons étudié dans la deuxième partie de ce travail un dosage de faibles quantités d'inositol en présence de glucides. Le problème se trouve donc à moitié résolu.

Si nous voulons pouvoir doser l'inositol urinaire, il nous faudra donc obtenir à partir de l'urine une solution suffisamment concentrée en inositol pour que le dosage précédemment décrit puisse s'appliquer.

A - ENTRAÎNEMENT de l'INOSITOL.

Nous sommes en présence d'une solution très diluée d'inositol, l'urine, pouvant contenir également des glucides. Nous désirons obtenir une solution aussi concentrée que possible en inositol, et contenant le minimum d'autres produits accessoires. Nous cherchons donc un entraînement total et sélectif de l'inositol, applicable à des solutions très diluées, de l'ordre de 1 pour 10.000.

Un entraînement sélectif de l'inositol n'a jusqu'ici pas pu être réalisé. En effet, dans toutes les méthodes utilisées, l'inositol s'est trouvé entraîné en même temps que les glucides. Néanmoins, on peut ainsi éliminer de très nombreux composés autres que les glucides.

La plupart des techniques proposées utilisent les propriétés des hydroxydes métalliques.

GALLOIS [32] (1864) emploie l'acétate basique de plomb pour entraîner l'inositol des urines pathologiques.

MEILLERE et P. FLEURY [33] (1910) montrent que le sous-acétate de plomb ne précipite l'inositol qu'à partir d'une concentration de 2 p. 1000, et en l'absence de glucides qui entravent la précipitation.

Ces mêmes auteurs emploient par la suite un mélange d'acétate neutre de plomb et de nitrate de cadmium : le précipité formé par l'addition d'ammoniaque entraîne tout l'inositol.

P. FLEURY et AMBERT [34] (1930) notent un entraînement incomplet par le complexe cuprobarytique.

NEEDHAM [35] (1923) utilise l'acétate de plomb dans une solution déjà concentrée en inositol; puis, dans une nouvelle méthode (1929) emploie simultanément le plomb et le cadmium [36] .

P. FLEURY et J. COURTOIS [37] (1932) étudient systématiquement l'entraînement des glucides et de l'inositol par divers hydroxydes métalliques.

YOUNG [38] (1934) précipite l'inositol par addition d'alcool dans une solution saturée de baryte.

Nous avons étudié trois méthodes parmi les précédentes, et nous avons obtenu les résultats suivants :

1° ENTRAÎNEMENT de l'INOSITOL par l'ACETATE BASIQUE de PLOMB AMMONIACAL.

Dans des tubes de centrifugeur, nous avons versé un volume fixe de solutions d'inositol de titres différents, se rapprochant de la teneur en inositol des différents tissus. Nous avons ajouté un volume connu de sous-acétate de plomb, puis, après agitation, une quantité mesurée d'ammoniaque officinale. Après un séjour à température constante, les tubes sont centrifugés. Le liquide limpide surnageant est versé dans un nouveau tube de centrifugeur, le plomb est éliminé de ce liquide par addition d'acide sulfurique en quantité suffisante; les tubes sont centrifugés fortement. Le liquide clair est versé dans un erlenmeyer; on dose l'inositol contenu dans cette solution, par conséquent l'inositol qui n'a pas été entraîné par l'acide periodique, on en déduit le pourcentage d'inositol entraîné.

A chaque série d'essais, les deux témoins suivants étaient ajoutés :

Tube n° 1 : absence d'inositol : il permet de vérifier l'absence de réduction de l'acide periodique.

Tube n° 2 : traitement identique aux autres tubes, mais sans inositol; celui-ci n'est ajouté en quantité connue qu'au moment d'effectuer le dosage à l'acide periodique; il permet de vérifier si l'oxydation par l'acide periodique se produit normalement.

Dans tous les essais, le témoin 1 ne consommait pas d'acide périodique, et l'inositol du témoin 2 était exactement retrouvé.

a - Influence de la proportion de sous-acétate de plomb.

Essais réalisés sur une solution contenant 0,450 g. d'inositol pour 1000 cm³; précipitation effectuée à 0° pendant 20 heures; la proportion d'ammoniaque ajoutée est de 10 p.100 du volume de la solution d'inositol:

Volume de sous-acétate de plomb pour 100 volumes de solution à doser	Pourcentage d'inositol entraîné
10	11
20	7,7

Un excès de sous-acétate de plomb entrave l'entraînement.

b - Influence de la quantité d'ammoniaque employée.

Essais réalisés sur la même solution d'inositol que ci-dessus; précipitation effectuée à 0°, pendant 20 heures, la proportion de sous-acétate de plomb utilisée est de 10 p.100 du volume de la solution d'inositol :

Volumes d'ammoniaque employés pour 100 volumes de la solution d'inositol	Pourcentage d'inositol entraîné
5	7,7
10	11
20	10

Il existe donc une proportion optimum d'ammoniaque.

c - Influence de la concentration en inositol.

Désirant rester aussi près que possible des conditions biologiques, nous n'avons utilisé que deux solutions : à 0,450 g. et 0,900 g. d'inositol pour 1000 cm³. Les proportions de sous-acétate de plomb et d'ammoniaque ajoutées étaient de 10 p.100; la précipitation était effectuée durant 20 heures, à 0°.

<u>mg. inositol pour 1000 cm³ de solution</u>	<u>Pourcentage d'inositol entraîné</u>
450	11
900	25

Le pourcentage d'inositol entraîné varie dans le même sens que sa concentration initiale.

d - Influence de la température de précipitation.

Au lieu de porter les tubes de centrifugeur pendant 20 heures, à 0°, on les place 40 minutes au bain-marie bouillant

Ces essais ont été réalisés sur des solutions de 450 et 900 mg. d'inositol pour 1000 cm³... additionnées de 10 p.100 de sous-acétate de plomb, et 5 p.100 d'ammoniaque

<u>mg. d'inositol pour 1000 cc.</u>	<u>Condition de la précipitation</u>	<u>Pourcentage d'inositol entraîné</u>
450	20 h. à 0°	7.7
450	40 m. à 100°	25
900	20 h. à 0°	14
900	40 m. à 100°	11

Favorable pour une faible concentration en inositol, une haute température de précipitation est défavorable pour une concentration plus forte.

CONCLUSIONS. - Dans tous les essais précédents, le pourcentage d'inositol entraîné n'a jamais dépassé 25 p.100. Cette méthode ne peut donc s'appliquer à des solutions d'inositol très diluées. De plus, de très nombreux facteurs agissent de façon importante sur le résultat de cet entraînement. Nous ne pouvons donc pas retenir cette méthode.

2° - ENTRAÎNEMENT DE L'INOSITOL par les HYDROXYDES de PLOMB et de CADMIUM.

Dans des tubes de centrifugeur, on verse une quantité fixe de solutions de titre connu en inositol. Dans chaque tube, on ajoute un volume de sous-acétate de plomb égal à 7 p.100 du volume de la solution d'inositol, et un volume de 5 p.100 d'une solution de nitrate de cadmium cristallisé à 20 p.100. On verse de l'ammoniaque goutte à goutte jusqu'à précipitation complète du plomb et du cadmium; centrifugation; le liquide clair est débarrassé des sels solubles de plomb par la quantité

nécessaire d'acide sulfurique; après centrifugation, le liquide surnageant est traversé par un courant d'hydrogène sulfuré jusqu'à précipitation totale du cadmium. Centrifugation. L'inositol existant dans le liquide clair est dosé volumétriquement par l'acide periodique. On obtient ainsi la quantité d'inositol qui n'a pas été entraîné, et on en déduit le pourcentage entraîné. Cette technique permet une élimination très rapide du plomb et du cadmium.

Suivant la concentration initiale de la solution, les pourcentages d'inositol entraîné sont les suivants :

Inositol en mg. pour 1000 cm ³ de solution	Pourcentage d'inositol entraîné
32	70
64	95
128	90
256	95

CONCLUSIONS. - Cette méthode permet d'entraîner la majeure partie de l'inositol d'une solution pure, même de titre faible. Mais, comme l'ont montré MEILLERE et P. FLEURY [39] la présence de glucides en rend l'application délicate et les résultats incertains. Elle ne peut donc être utilisée pour un dosage.

3° ENTRAÎNEMENT DE L'INOSITOL par la BARYTE ALCOOLIQUE.

Cette méthode d'isolement des glucides due à TANRET [40] a été étudiée par FATOME [41] dans un but très différent de celui que nous désirons obtenir.

Cet auteur, en effet, dans une solution de glucides et de glycérol, entraîne les glucides dans un complexe barytique par addition d'alcool à la solution préalablement saturée de baryte, et dose ensuite le glycérol restant. Il était probable, et c'est ce que nous avons vérifié, que l'inositol serait entraîné en même temps que les glucides.

Cette méthode nous ayant donné de bons résultats a été adoptée définitivement.

Nous allons exposer successivement :

La technique adoptée;

La justification de cette technique;

Les résultats obtenus.

A - TECHNIQUE ADOPTÉE.

5 cm³ de la solution contenant l'inositol à doser sont mis en contact dans un petit cristalliseur avec 1 g. d'hydrate de baryte finement pulvérisé. Ce cristalliseur est laissé à la température ordinaire pendant quelques instants, en agitant de temps en temps.

Le liquide est filtré sur un très petit filtre sans plis; on mesure 3,5 cm³ du filtrat que l'on verse dans un tube de centrifugeur, fermant avec un bouchon à vis, de 35 - 40 cm³ de capacité. On remplit le tube avec de l'alcool à 95°; on le bouche, l'agite et le laisse environ 20 heures à la glacière. Il est ensuite centrifugé. Le liquide clair est rejeté; le culot, contenant l'inositol, est délayé dans 2 à 3 cm³ d'eau distillée. On lui ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique concentré (environ 3 à 4) de façon à précipiter toute la baryte et à se trouver en milieu acide pour libérer l'inositol. Centrifugation. Le liquide clair est versé dans un cristalliseur; le culot de centrifugation est lavé à nouveau avec 2 à 3 cm³ d'eau; après centrifugation les eaux de lavage sont réunies au cristalliseur précédent. Le liquide obtenu est neutralisé avec de la lessive de soude, en présence d'un indicateur coloré. On peut alors y doser l'inositol par l'acide periodique, soit volumétriquement, soit manométriquement.

B - JUSTIFICATION de la TECHNIQUE ADOPTÉE.

Les 5 cm³ de la solution aqueuse utilisée contiennent 9 mg. d'inositol. L'inositol entraîné est dosé volumétriquement par l'acide periodique.

Tous les pourcentages donnés sont des moyennes de plusieurs essais, différant au plus entre eux de 5 p.100.

1° Influence de la durée de contact baryte-solution aqueuse.

FATOME [42] indique que le contact doit se faire à la température de 0°. Nous avons d'abord employé cette température.

Température 0°

Durée de contact	Inositol trouvé pour 100
30 minutes	85
1 heure	83
2 heures	84

Ce temps de contact ne semble avoir que peu d'influence. De même, la température de 0° n'est utile que lorsque l'on veut entraîner les glucides sans altération. On obtient le même pourcentage d'inositol entraîné en laissant quelques instants le cristalliseur à la température ordinaire, en l'agitant de temps en temps. Dans ces conditions, l'inositol reste parfaitement intact.

A 100°, il n'est même que très partiellement détruit par la baryte : après action à l'ébullition, pendant 60 minutes, de 1 g. de baryte sur 5 cm³ d'une solution contenant 9 mg. d'inositol, le pourcentage d'inositol détruit a été de 27 p.100

2° - Titre de l'alcool employé.

Dans les résultats suivants, l'inositol a été dosé simultanément par volumétrie et manométrie :

Titre de l'alcool employé	Pourcentage d'inositol entraîné
100	70
95	85
90	83
70	65

L'alcool à 95° sera donc préférable; l'alcool à 90° pourrait cependant être employé sans inconvénient notable.

3° Durée de contact de l'alcool avec la solution barytique aqueuse d'inositol.

Le contact s'effectue à 0°.

Titre de l'alcool utilisé	durée de contact en heures	Pourcentage d'inositol entraîné
100°	18	62
100°	48	81
95°	18	85
95°	48	87
90°	18	83
90°	48	87

Pour ne pas prolonger outre mesure la durée des manipulations, le temps de contact 18 - 20 heures a été adopté.

4° Température du contact de l'alcool avec la solution aqueuse barytique d'inositol.

Titre de l'alcool employé : 95°

Durée de contact en heures	Température en degrés c.	Pourcentage d'inositol retrouvé
16	0°	83
16	15°	76
64	0°	84
64	15°	80

La température de 0° degré est donc nécessaire pour assurer un entraînement convenable de l'inositol par la baryte.

5° Essais de remplacement de l'alcool par d'autres liquides.

a - Emploi d'alcool méthylique saturé de baryte.

De l'alcool méthylique pur est saturé d'hydrate de baryte pulvérisé par agitation prolongée à la température du laboratoire. En utilisant les conditions les meilleures déterminées pour l'alcool éthylique, la moyenne des quantités d'inositol entraîné n'a été que de 48 p.100

b - Emploi d'alcool éthylique à 95° saturé de baryte.

Même préparation que pour l'alcool méthylique; 1000 cm³ de cet alcool saturé de baryte ne consomment que 25 cc. de solution décimale d'acide chlorhydrique; la solubilité est donc très faible.

Dans les conditions les meilleures déterminées pour l'emploi de l'alcool éthylique la moyenne des quantités d'inositol entraînées n'a été que de 71 p.100.

c - Emploi d'un mélange d'alcool éthylique à 90° et d'éther.

Dans les meilleures conditions déterminées ci-dessus, les pourcentages d'inositol entraîné ont été les suivants, pour des mélanges alcool-éther de titre variable.

Mélange utilisé	Pourcentage d'inositol entraîné
Alcool à 90°	82
9 vol. alcool 90° 1 vol. éther	84
8 vol. alcool 90° 2 vol. éther	83
7 vol. alcool 90° 3 vol. éther	78

Les résultats ne semblent pas suffisamment améliorés pour justifier l'emploi de l'éther.

6° Quantité d'acide sulfurique employée pour précipiter la baryte à l'état de sulfate de baryum dans le culot de centrifugation.

Dans les meilleures conditions déterminées ci-dessus, si l'on ajoute de l'acide sulfurique jusqu'au virage de la phtaléine, on ne retrouve que 67 p.100 de l'inositol introduit; si l'on ajoute un excès d'acide, on retrouve 85 p.100 de l'inositol.

Un excès d'acide sulfurique semble donc nécessaire pour libérer tout l'inositol de sa combinaison barytique.

C - RESULTATS OBTENUS.

L'entraînement de l'inositol par cette méthode est facile à réaliser, et d'exécution rapide. Il ne nécessite pas l'emploi de l'hydrogène sulfuré. Son rendement, s'il n'est pas total, est constant et d'environ 85 p.100. Les écarts ne dépassent guère en moyenne un à deux pour 100, et sont en général des diminutions de l'entraînement. Le chiffre d'inositol trouvé devra donc être multiplié par 1,2 pour retrouver le chiffre d'inositol introduit.

CONCLUSIONS. - Nous avons retenu deux méthodes pour l'entraînement de l'inositol dans un mélange complexe :

1° - L'entraînement par les hydroxydes de plomb et de cadmium : méthode d'exécution lente, donnant de bons résultats en l'absence de grandes quantités de glucides, permettant d'entraîner l'inositol d'un grand volume de liquide. Elle sera employée plus spécialement à l'essai d'isolement de l'inositol de l'urine normale.

2° - L'entraînement par la baryte en milieu alcoolique fort : méthode d'exécution rapide, très facile à réaliser, donnant des résultats constants, mais nécessitant dix volumes d'alcool à 95° pour un volume de solution à traiter. Cette méthode sera employée au dosage de l'inositol dans l'urine.

B. - DOSAGE de l'INOSITOL dans l'URINE.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous avons étudié une technique de dosage de l'inositol en présence de glucides. Au chapitre précédent, nous avons mis au point un procédé d'entraînement de l'inositol à partir d'une solution diluée. En combinant ces deux méthodes, nous pouvons établir un dosage de l'inositol dans l'urine qui comprendra les opérations suivantes :

- 1° - Entraînement inositol-glucides par la baryte alcoolique.
- 2° - Destruction des glucides par l'oxyde de magnésium, au bain-marie à 100°.
- 3° - Extraction des "glucides résiduels", par mélange alcool-éther acide.
- 4° - Dosage manométrique différentiel de l'inositol.

1° DESCRIPTION de la TECHNIQUE EMPLOYEE.

Le volume de la prise d'essai dépendra du matériel dont on dispose. Il faut utiliser des tubes de centrifugeur aussi grands que possible, et en nombre assez important. Nous avons employé quatre à huit tubes de centrifugeur de 35-40 cm³, bouchés à vis.

Un volume d'urine exactement mesuré est versé dans un cristalliseur; on ajoute 1 g. de baryte hydratée pulvérisée par 5 cm³ d'urine.

Le cristalliseur est laissé 10 à 15 minutes à la température du laboratoire, en agitant de temps en temps.

Le liquide est filtré dans un petit filtre à plis; on obtient ainsi une urine déféquée à la baryte.

Dans chaque tube de centrifugeur, on mesure un volume de l'urine ainsi déféquée représentant le dixième du volume total de ce tube. Soit a cm³ le volume total d'urine déféquée, utilisée dans les tubes de centrifugeur. Chaque tube de centrifugeur est rempli avec de l'alcool à 95°, bouché et agité. Tous les tubes sont portés à la glacière.

Après 18 à 20 heures, les tubes sont centrifugés et l'alcool surnageant rejeté. Chaque culot est mis en suspension dans quelques centimètres-cubes d'eau distillée, et acidifiée dans un excès d'acide sulfurique concentré, environ 3 à 4 gouttes, de façon à précipiter toute la baryte. Le liquide de tous les tubes de centrifugeur est rassemblé dans un seul tube; centrifugation; le liquide surnageant est versé dans un cristalliseur. Chaque tube de centrifugeur est lavé avec quelques centimètres-cubes d'eau, les liquides de lavage sont recueillis dans le premier tube de centrifugeur; le précipité de sulfate de baryum y est remis en suspension, pour être lavé; centrifugation; le liquide clair est versé dans le cristalliseur contenant déjà la première solution.

Le cristalliseur est porté 30 minutes au bain-marie bouillant pour hydrolyser éventuellement les polyholosides susceptibles d'y exister, et concentration. On neutralise ensuite la solution avec de la lessive de soude jusqu'au pH 7. On concentre à nouveau au besoin.

Le liquide concentré est mesuré dans une petite éprouvette; soit b cm³ son volume (généralement 10 cm³). On le verse dans un erlenmeyer d'une capacité 10 fois plus importante, et l'on continue suivant la technique indiquée page 34 : addition de magnésie (1 g. par 5 cm³), bain-marie bouillant 30 minutes, addition de c cm³ d'eau distillée, agitation mécanique, centrifugation (et filtration si nécessaire), évaporation à siccité dans un tube de centrifugeur conique, au bain-marie

puis à l'étuve à 100°.

Le résidu sec est trituré avec un agitateur mince à bout non rodé de façon à obtenir une poudre aussi fine et aussi homogène que possible. On verse sur ce résidu le mélange, préparé dans une petite éprouvette, de :

Alcool éthylique absolu :	2 cm ³
Ether sulfurique anhydre :	8 cm ³
Acide sulfurique pur :	X gouttes

Le résidu est mis en suspension dans ce liquide. On vérifie l'acidité au violet de méthyle, et porte quelques minutes au bain-marie. Le tube est bouché et agité très fortement. On le laisse à la glacière durant au moins 18 à 20 heures.

Centrifugation. Le liquide clair est rejeté. Le culot de centrifugation est dissous dans quelques centimètres-cubes d'eau. On porte le tube au bain-marie pour chasser l'alcool et l'éther restant. Quand toute trace d'alcool ou d'éther a disparu, le résidu est dissous dans la plus petite quantité d'eau distillée possible; la solution est versée dans une très petite éprouvette à pied. On rince le tube de centrifugeur avec quelques gouttes d'eau, et l'on joint les eaux de lavage à l'éprouvette. On mesure le volume obtenu - soit $x \text{ cm}^3$ - ce volume.

Un centimètre-cube de cette solution est mis en contact dans un appareil de WARBURG avec 1 cm³ d'acide periodique N/2, à la température de 30°.

On effectue le plus grand nombre possible de mesures, c'est-à-dire que l'on utilise $n - 1$ manomètres.

Comme nous l'avons étudié page 14, le dosage est effectué durant les quatre premières heures en dressant la courbe du dégagement en fonction du temps. Cette technique permet d'éliminer les dénivellations dues aux glucides résiduels, ou, si l'extraction en a été mauvaise, de ne pas retenir le dosage.

2° CALCULS.

Soit p la moyenne du poids en mg. d'inositol dosé dans l'appareil de WARBURG, c'est-à-dire dans un centimètre-cube de la solution finale. L'ensemble du résidu, après extraction à l'alcool-éther contenait donc :

$p \times x$ mg. d'inositol

Lors du traitement à l'alcool-éther, nous avons perdu n mg. d'inositol, déterminé d'après le tableau de la page 32. Dans les d cm³ de filtrat évaporé, il y avait donc :

$$(p + n) \text{ mg. d'inositol}$$

et dans l'erlemeyer, après addition de c centimètres-cubes d'eau distillée :

$$\frac{(p + n) (b + c)}{d} \text{ mg. d'inositol}$$

Par suite de l'entraînement à la baryte alcoolique cette quantité ne représente que les 82 p.100 de l'inositol introduit. Dans les a centimètres-cubes d'urine déféqués de la prise d'essai, il y avait donc :

$$\frac{1,2 (p + n) (b + c)}{d} \text{ mg. d'inositol}$$

et dans 1000 centimètres-cubes d'urine :

$$(4) \quad \frac{1200 (p + n) (b + c)}{a d} \text{ mg. d'inositol}$$

3° CONDITIONS QUE DOIT REMPLIR L'URINE pour le DOSAGE de l'INOSITOL.

A. - Valeurs des paramètres a, b, c, d, e .

Tout ce que nous avons dit dans la deuxième partie de ce travail s'applique intégralement pour les paramètres b, c, d, e . Pour le nouveau paramètre a , l'examen de la formule (4) montre qu'il doit être aussi grand que possible. Cela revient donc à traiter par la baryte et l'alcool le plus grand volume d'urine que le permet l'appareillage dont on dispose. Pratiquement, ayant à notre disposition des tubes de centrifugeur de 35-40 cm³ de capacité, nous avons employé huit pour chaque dosage lors de la plupart de nos essais. Le volume a était donc :

$$a = 3,5 \times 8 = 28 \text{ cm}^3$$

L'inositol entraîné est ensuite dissous, et la solution est concentrée; nous l'amenons à un volume b de 10 cm³. Après action de 2 g. de magnésie, nous ajoutons 15 cm³ d'eau distillée, soit $c = 15$ cm³. La centrifugation nous permet de recueillir une quinzaine de centimètres-cubes de liquide; nous en évaporons la quantité constante d de 15 cm³.

Le résidu de l'extraction alcool-éther est dissous dans 5 cm³

soit $e = 5 \text{ cm}^3$.

B. - Teneur en glucose et inositol de l'urine à doser.

Nous pouvons les déterminer en reprenant exactement le raisonnement de la page 38, en changeant seulement la valeur de b, c, d et a.

Chiffre maximum de glucose devant exister dans 1000 cm^3 de la solution sur laquelle on fait agir la magnésie :

$$P' = \frac{1000 (5 \times 11,6) (10 + 15)}{10 \times 15} = 9,666 \text{ mg. glucose}$$

b, soit 10 cm^3 , en contiendront $\frac{9,666}{100} = 96,6 \text{ mg.}$

Ces $b \text{ cm}^3$ résultant par extraction et concentration de $a = 28 \text{ cm}^3$ d'urine, l'urine devra contenir moins de $\frac{96,6 \times 1000}{28} = 3,452 \text{ mg.}$ de glucose pour 1000 cm^3 .

La quantité minimum d'inositol devant exister pour 1000 cm^3 de la solution où l'on fait agir la magnésie sera :

$$P'' = \frac{1000 (5 \times 0,09 + 24) (10 + 15)}{10 \times 15} = 115 \text{ mg.}$$

ce qui donne pour 1000 cm^3 d'urine :

$$\frac{115 \times 1000}{28} = 41 \text{ mg.}$$

L'urine à doser devra donc contenir à la fois moins de $3,45 \text{ g.}$ pour 1000 cm^3 de glucose et plus de 41 mg. d'inositol. Dans le cas d'une urine fortement glycosurique, il est nécessaire de diminuer le volume de la prise d'essai a. Ce volume a peut-être diminué soit en diluant l'urine et en gardant le même nombre de tubes de centrifugeur, soit en opérant sur l'urine pure, mais en diminuant le nombre de tubes de centrifugeur employés. Pour que les facteurs de correction puissent jouer dans des conditions identiques à celles où ils ont été déterminés, il semble préférable de diluer l'urine au préalable.

4° ERREURS.

L'étude des erreurs possibles peut s'effectuer comme il est indiqué à la page 39, pour chaque valeur des volumes a, b, c, d, e employés.

Un autre facteur intervient cependant : l'erreur due à la

précipitation de l'inositol par la baryte alcoolique. Nous avons déterminé que cet entraînement était de 25 p.100 et nous avons adopté un facteur correctif. Cet entraînement varie au maximum de 2 p.100; l'erreur relative maximum pour une urine renfermant 23,45 g. de glucose et 41 mg. d'inositol pour 1000 cm³ sera donc de 26 + 28 p.100. Cette erreur diminue très rapidement avec l'accroissement du rapport $\frac{\text{inositol}}{\text{glucose}}$

5° RESULTATS OBTENUS.

L'application de cette méthode à la recherche systématique de l'inosurie fera l'objet de la quatrième partie de ce travail.

Nous nous proposons seulement ici d'étudier si les erreurs pratiquement observées se tiennent bien dans les limites des erreurs prévues par le calcul.

A - Dosage de l'inositol d'une solution titrée, suivant la technique indiquée. - Ces essais nous permettent de vérifier si les corrections apportées correspondent bien aux pertes réelles en inositol. Ils ont été effectués sans connaître au préalable la teneur en inositol de la solution.

Inositol introduit en mg. pour 1 cm ³	Inositol retrouvé en mg. p. 1000 μ m ³	Erreur absolue	Erreur relative pour 100
108	107	-1	-0,9
216	212	-4	-1,8

B - Dosage de l'inositol contenu d'abord dans une urine, puis dans la même urine enrichie d'une quantité connue.

Les deux dosages étaient effectués simultanément. L'enrichissement de l'urine en inositol n'était pas connu au préalable.

Urine	Inositol en mg. p. 1000 cm ³	Inositol ajouté en mg. p. 1000 cm ³	Inositol total en mg. pour 1000 cc.	Inositol retrouvé en mg. p. 1000 cm ³	Erreur p. 100
N° 1	143	292	436	293	0
N° 2	160	300	430	270	-10
N° 3	147	180	322	175	-3
N° 4	158	90	252	94	+4

Les erreurs restent donc bien dans les limites prévues; l'essai le plus défectueux accuse une perte de 10 p.100 de l'inositol introduit. Nous pouvons donc espérer que nos dosages d'inositol urinaire seront entachés au maximum d'une erreur de 10 pour 100.

CHAPITRE III

RESULTATS OBTENUS.

Nous avons vu que les dosages d'inositol dans l'urine ont toujours été entravés par l'absence de technique suffisamment simple et spécifique. Malgré ces difficultés, de nombreux auteurs ont pu déterminer les principaux cas d'inosurie.

Nous avons essayé d'apporter quelques précisions à ce problème. Nous avons surtout cherché à mettre en évidence une inosurie physiologique, puisque ce dernier point est le plus controversé.

L'étude de l'inosurie pathologique n'a pu être effectuée comme nous l'aurions désirée; nous nous sommes bornés à quelques dosages, assez dispersés, qui ne peuvent permettre d'établir des conclusions d'ensemble.

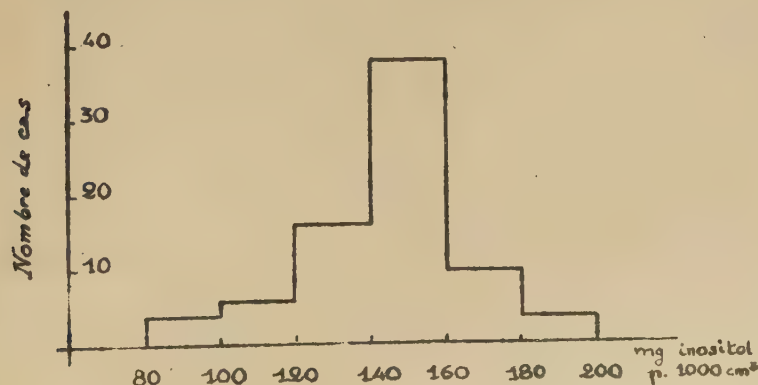
Nous classerons donc nos dosages en deux groupes :

Les dosages effectués sur des urines normales.

Les dosages effectués sur des urines pathologiques.

A - URINES NORMALES.

Nous avons effectué 39 dosages sur des urines normales, urines d'hommes jeunes, entre 20 et 40 ans, soumis à une alimentation mixte. Tous nos dosages ont montré la présence d'inositol : de 90 à 200 mg. pour 1000 cm³ d'urine. Les résultats se répartissent suivant la courbe suivante :



Sur un même sujet, nous avons cherché la teneur en inositol de l'urine à différentes heures de la journée. Nous avons obtenus les chiffres suivants :

Heures	Inositol en mg. pour 1000 cm ³
8	144
11	160
17	158
19	122
23	118

Ces dosages n'ont pas été répétés une deuxième fois dans leur ensemble; il est donc difficile d'en tirer une conclusion; néanmoins, à une heure précise, la même teneur en inositol n'a pas été retrouvée. Il ne semble donc pas exister de cycle cythéméral de l'élimination de l'inositol.

Des dosages effectués sur un même sujet à des dates différentes de l'année nous ont donné des chiffres comparables. Un cycle annuel d'élimination ne semble donc pas exister.

B - URINES PATHOLOGIQUES.

Les deux grandes diathèses, dans lesquelles l'inositol a été recherché, ont toujours été le mal de BRIGHT et le diabète sucré. Les résultats obtenus ont été assez contradictoires. Il semble néanmoins bien établi, à la suite des travaux de MEILLERE et P. FLEURY [43] que l'inosurie est intimement liée à la glucosurie. Certains auteurs cependant, en particulier STARKENSTEIN [44] pensent au contraire que l'inosurie est liée à la diurèse aqueuse. Dans le mal de BRIGHT, la plupart des auteurs rencontrent l'inosurie de façon accidentelle.

Nous avons effectué un certain nombre de dosages d'inositol dans des urines albuminuriques et dans des urines glucosuriques. Nos résultats paraissent confirmer ceux qui avaient été obtenus auparavant. Quelques autres dosages ont été réalisés sur des urines de diabétiques soumis à l'insulinothérapie, et sur des urines ictériques.

1° URINES ALBUMINURIQUES.

Nous diviserons les urines en trois catégories, suivant qu'elles contiennent :

- de l'albumine seule;
- de l'albumine et de la pseudoalbumine;
- de la pseudoalbumine seule.

a - Albumine seule.

Nous avons obtenu des résultats très contradictoires. L'inosurie peut être normale; elle est assez rarement diminuée; elle est fréquemment augmentée. Un résultat se dégage néanmoins nettement : L'inosurie n'est jamais proportionnelle aux taux d'albumine, comme en témoignent les chiffres suivants :

	Albumine en g. pour 1000 cm ³	Inositol en mg. pour 1000 cm ³
Lau...	0,25	88
Mon...	1	216
Per...	0,12	106
Ler...	0,50	128
Pre...	1,20	102
Bou...	3,60	57
Rom...	3,30	98
Car...	2,40	200
Fla...	0,50	354
Bic...	1	307

Nous avons effectué qu'un seul dosage sur une urine contenant de l'albumine fonctionnelle, ici orthostatique :

	Albumine	Inositol
Puc...	1	71

b - Albumine et pseudo-albumine.

Deux dosages seulement ont pu être réalisés, sur des urines de femmes enceintes. Les deux chiffres trouvés sont très nettement au-dessus de la normale, mais le nombre d'observations est trop réduit pour que l'on puisse en dégager une conclusion. De plus, c'est peut-être l'état de grossesse, et non la présence d'albumine ou de pseudo-albumine, qui entraîne une élévation du taux de l'inositol.

	Albumine en g. pour 1000 cm ³	Inositol en mg. pour 1000 cm ³
Ter...	0,47	341
Acc...	0,39	405

c - Pseudo-albumine seule.

Le seul dosage effectué dans ce cas nous a donné un taux élevé d'inositol : 286 mg. Aucune conclusion ne peut être dégagée.

Si la présence d'albumine ne semble pas entraîner obligatoirement une élévation du taux de l'inositol, il semble donc cependant que, dans la moitié des cas, ce taux est fortement augmenté, sans qu'il existe une proportionnalité entre la teneur en albumine et la teneur en inositol. Dans une étude plus poussée, il sera nécessaire de classer les cas étudiés suivant le diagnostic clinique.

2° URINES GLUCOSURIQUES.

Les conclusions semblent ici plus faciles à dégager. En effet, dans presque tous les cas, l'inosurie s'élève nettement en présence de glucosurie; dans un seul cas l'inosurie est restée normale. Il ne semble pas exister de proportionnalité entre inosurie et glucosurie.

Les chiffres obtenus ont été les suivants, l'inositol et le glucose ayant été dosés sur les urines de 24 heures :

	Volume par 24 h. en cc.	Glucose en g. par 1000 cm ³	Inositol en mg. par 1000 cm ³
Jou...		44	215
Jou...		17	448
Pra...	1.500	2	247
Bie...	1.850	4	472
Mou...		3	384
Par...	2.500	21	137
Bor...	2.000	37	843
Her...	1.000	6	441

Nous remarquons que l'inosurie n'est pas liée à l'augmentation de la diurèse aqueuse, comme le pensait STARKENSTEIN. Nous avons d'ailleurs essayé d'effectuer un dosage d'inositol sur l'urine d'un malade venant d'être atteint de diabète insipide; l'élimination urinaire quo-

tidienne était tombée à 2000 cm³; l'inositol, s'il existait, était à un taux trop réduit pour pouvoir être dosé par notre méthode.

Nous n'avons pu réaliser qu'un dosage sur une urine à la fois glucosurique et albuminurique. Le résultat obtenu fut le suivant, pour 1000 cm³

	Glucose	Albumine	Inositol
God...	20 g.	2 g.	371 mg.

Par suite du rapport du diabète avec l'insuline, nous avons cru intéressant de doser l'inositol dans l'urine de malades soumis au choc insulinaire (injections d'insuline répétées, de façon à produire le coma).

Des dosages ont été réalisés sur les urines émises avant le choc, et immédiatement après le choc.

Les taux d'inositol, en mg. pour 1000 cm³, ont été :

	Avant coma	Après coma
Flu...	154	859
Fra...	144	988

Mais l'élimination urinaire après coma était très réduite. Il n'est pas impossible que la valeur élevée du taux de l'inositol soit due à cette diminution de la diurèse.

En effet, chez des malades soumis à cette thérapeutique, nous avons effectué des dosages d'inositol sur l'urine émise le matin avant l'injection d'insuline, puis sur l'urine émise l'après-midi.

Le taux d'inositol, en mg. pour 1000 cm³ ne semble pas accru :

	Matin	Après-midi
Cha...	404	222
For...	183	310
Ehr...	205	108
Mes...	219	158
Ros...	63	120

3° URINES ICTERIQUES.

Deux dosages seulement ont été effectués, dans des urines contenant pigments et sels biliaires. Les taux d'inositol trouvés, en mg. pour 1000 cm³ d'urines sont :

Fro...	88
Lag...	157

CONCLUSIONS.

Dans l'urine normale, notre méthode de dosage de l'inositol nous a toujours permis de constater une inosurie, s'étendant de 80 à 200 mg., mais se groupant principalement entre 140 - 160 mg.

Les urines albuminuriques nous ont donné des teneurs en inositol extrêmement variables, entre 57 et 405 mg. Les urines glucosuriques ont eu presque toujours un taux d'inositol fortement augmenté, atteignant 843 mg. Dans ces deux cas, l'importance de la diurèse ne semble pas agir sur l'inosurie.

CHAPITRE IV.

ESSAI D'EXTRACTION DE L'INOSITOL URINAIRE (1).

Pour obtenir à partir d'un grand volume d'urine un résidu aussi riche que possible en inositol, nous nous sommes adressés à la technique d'entraînement par les hydroxydes de plomb et de cadmium, utilisée par G. MEILLERE et P. FLEURY [45], et que nous avons étudiée dans ce travail à la page 47.

A - TECHNIQUE D'EXTRACTION.

Nos tentatives ont mis en oeuvre à quatre reprises dix litres d'urine humaine. Au cours de ces quatre opérations, nous avons progressivement amélioré notre technique. Seule, la quatrième opération a pu être menée jusqu'au bout.

Nous résumons ci-dessous la technique telle qu'elle a été mise en oeuvre dans la quatrième opération.

1° Phase - Défécation :

Dix litres d'urine, recueillis sous toluène, et de teneur connue en inositol sont additionnés d'acide chlorhydrique jusqu'à obtenir un pH d'environ 2 (soit 100 cm³ environ). On ajoute 1000 cm³ de solution d'acétate neutre de plomb à 30 p.100 (Réactif de Courtonne), pour effectuer une première défécation.

2° Phase : Entraînement de l'inositol :

Après 24 heures de repos on décante et filtre la partie aqueuse, on essore le précipité; on obtient ainsi environ 10.800 cm³ d'urine déféquée. On fait dissoudre dans ce volume 200 g. de nitrate de cadmium cristallisé, et ajoute 500 cm³ de solution de sous-acétate de plomb (codex). Le liquide reste clair. On ajoute par petites portions, en agitant, de l'ammoniaque officinal jusqu'à précipitation des hydro-

(1) Pour cette partie de notre travail, Mlle L. JOLY a bien voulu nous apporter le concours de son habileté expérimentale. Nous lui en exprimons ici nos sincères remerciements.

xydes de plomb et de cadmium. Il faut éviter un excès d'ammoniaque. Il est donc nécessaire de faire, vers la fin de la précipitation, des prises d'essais que l'on centrifuge rapidement : on s'assure par addition d'ammoniaque au liquide clair surnageant qu'il se forme un précipité. Nous avons employé généralement entre 260 et 280 cm³ d'ammoniaque officinal.

On laisse décanter le précipité pendant 24 heures. On filtre le liquide clair au Büchner, - ou même, si possible, on centrifuge, - puis le précipité, que l'on essore à fond. Ce précipité contient la plus grande partie de l'inositol des dix litres d'urine (soit les 80 P.100 de la quantité primitive).

3° Phase - Décomposition du précipité; solution inositol-glucides.

Le précipité est fragmenté et délayé dans un ballon de 5 litres avec environ 1.500 cm³ d'eau. Le ballon est bouché et agité vigoureusement à l'agitateur électrique pendant plusieurs heures. On fait ensuite passer, en maintenant le ballon sur l'agitateur électrique, à travers la bouillie obtenue un lent courant d'hydrogène sulfuré, jusqu'à ce qu'une partie du liquide centrifugé ne précipite plus par l'hydrogène sulfuré. Dix ou vingt heures sont nécessaires pour obtenir ce résultat.

La bouillie noirâtre est filtrée et essorée sur un Büchner. Le précipité est lavé avec environ cinquante centimètres-cubes d'eau bouillante. La solution obtenue, d'un volume d'environ 1.500 cm³, contient la plus grande partie de l'inositol des dix litres d'urine; de nombreux composés urinaires ont déjà été éliminés. Par contre tous les glucides ont été entraînés en même temps que l'inositol.

Dans cette solution, on effectue un dosage de l'inositol. On peut ainsi vérifier que la purification et l'entraînement ont bien été effectués. Dans nos divers essais, nous avons retrouvé entre 70 et 85 P.100 de l'inositol initial.

4° Phase - Purification de la solution inositol-glucides; obtention d'un extrait purifié.

Nous avons essayé de purifier et de concentrer cette solution de nombreuses façons : concentration sous pression réduite après neutralisation, précipitation par la baryte alcoolique, adsorption par le noir animal, cristallisations fractionnées dans l'alcool à divers titres. Aucune de ces méthodes ne nous a donné de résultats. La technique suivante nous a semblé préférable :

I - Défécation mercuro-barytique.

Les composés azotés entraînés dans le précipité d'hydroxydes de plomb et de cadmium sont éliminés par un excès de sulfate mercurique; on ajoute peu à peu de la baryte jusqu'aux environs de la neutralité (pH : 6.5). Après filtration, l'excès de mercure est éliminé par l'hydrogène sulfuré, et le baryum par la quantité strictement nécessaire d'acide sulfurique.

II - Elimination des acides organiques et nitriques.

On obtient ainsi une solution très acide. Cette acidité est constituée par des acides organiques, donnant à la solution une odeur très désagréable, de petites quantités d'acides nitrique, et une quantité assez importante d'acide chlorhydrique.

Les acides organiques et l'acide nitrique sont éliminés par épuisement à l'éther, dans un appareil à extraction continue.

III - Elimination de l'ion Cl^- .

L'ion Cl^- est précipité par addition, en quantité calculée, de carbonate d'argent jusqu'à neutralité, et d'acétate d'argent.

IV - Transformation en extrait purifié E.

Nous avons obtenu par ce traitement 375 cm³ d'une solution neutre, pratiquement inodore, et relativement peu colorée. Elle renferme, pour la totalité des 375 cm³:

Extrait sec	9,10 g.
Cendres	0,933g.
Pouvoir réducteur (en glucose).....	1,120g.
Inositol (dosage manométrique).....	1,12 g.

Cette solution est évaporée à sec.

5° Phase - Extraction méthodique de l'extrait E.

1 - Epuisement par l'alcool absolu.

Le résidu est traité longuement à froid (agitation mécanique avec billes de verre) par 100 cm³ d'alcool absolu, qui dissout près de 4 g. du produit, sans entraîner sensiblement d'inositol. Cette partie alcoolique est rejetée.

11 - Epuisement par l'alcool à 80°.

Le résidu insoluble dans l'alcool absolu est traité à froid de façon identique par 100 cm³ d'alcool à 80°, qui en dissout une quantité importante. On obtient ainsi une fraction soluble et une fraction insoluble.

a - La fraction soluble correspond à 2,04 g. d'extrait sec. Son pouvoir réducteur, exprimé en glucose, est de 0,31 g. et le dosage manométrique de l'inositol, après action de la magnésie, indique 0,482g. La quantité d'inositol dissoute ainsi dépasse largement celle qu'on peut calculer d'après la solubilité indiquée dans le travail de Mme Y. FIEVET-GUINARD [46] : 0,110 g. p. 100 cm³. Il faut donc admettre que le produit dosé, ou bien n'est pas, tout au moins pour sa plus grande part, du méso-inositol, ou bien que celui-ci est solubilisé par des impuretés de la solution.

Cette partie soluble est alors traitée, en milieu aqueux et à l'ébullition, par l'oxyde de magnésium récemment calciné; la partie aqueuse, résultant de l'épuisement de la bouillie magnésienne obtenue, est évaporée à sec, et reprise à l'ébullition par l'alcool à 80°, qui ne laisse dans la partie insoluble qu'une vingtaine de mg. au plus d'inositol.

Cette solution alcoolique ne laisse déposer par refroidissement qu'un enduit visqueux; il ne se forme aucun cristal, même par amorçage et repos pendant une huitaine de jours. Cette solution est distillée à sec. On obtient un résidu pesant 1,20 g. et contenant au maximum 293 mg. d'inositol d'après la consommation d'acide periodique. Ce résidu est épuisé méthodiquement à l'ébullition pendant une heure à l'aide de 10 cm³ d'alcool de titre décroissant : 95°, 90°, 80°. Aucun de ces alcools n'a montré de cristallisation, sauf l'alcool à 90°, qui a laissé déposer de rares cristaux; ceux-ci ont donné une réaction de Scherer-Gallois positive, effectuée suivant la technique étudiée par R. VENDRELY [47] .

Finalement tous les alcools ont été réunis, et le résidu de leur évaporation à sec a servi à une tentative d'acétylation qui n'a pas donné de résultats.

b - La fraction insoluble pèse 1,132 g. On y ajoute la partie visqueuse signalée ci-dessus. L'ensemble est traité par l'oxyde de magnésium récemment calciné à l'ébullition. Après reprise par l'eau, on obtient une solution contenant 91 mg. d'inositol (dosage par réduction de l'acide periodique). Une évaporation à sec donne un résidu qui est épuisé à l'ébullition pendant deux heures par 60 cm³ d'alcool à 80°.

La partie insoluble renferme encore 39 mg. d'inositol (d'après l'acide periodique réduit). La solution alcoolique est abandonnée à elle-même. Au bout de quelques jours, des cristaux incolores apparaissent, plus ou moins enrobés dans une petite quantité d'un sirop jaunâtre. Une quinzaine de jours après, l'alcool surnageant est séparé des cristaux. Il est additionné d'éther jusqu'à trouble persistant. Après quelques jours, de petits cristaux apparaissent. Ces cristaux de deux origines sont traités de la même façon : on les lave deux fois avec 1 à 2 cm³ d'alcool à 80°; on tente de les dissoudre dans 2 à 3 cm³ d'alcool de même titre à l'ébullition, mais sans succès, l'alcool chaud se colore légèrement en enlevant la plus grande partie du produit sirupeux. Les cristaux sont alors traités par une très petite quantité d'eau, de l'ordre de 1 à 2 cm³. La dissolution s'effectue, mais assez lentement pour que l'on puisse séparer quelques cristaux très bien formés et incolores.

La totalité de la récolte, cristaux et évaporation de la solution aqueuse qui laisse un résidu nettement cristallisé, pèse environ 25 mg.

B - PURIFICATION.

Nous tentons de faire recristalliser ce produit par dissolution, à chaud, dans la quantité voulue d'alcool à 80°, et refroidissement. Ce produit ne se dissout que très faiblement. Nous abaissons alors le titre de l'alcool à 75°; la dissolution est nettement plus abondante et permet une cristallisation par refroidissement. Nous arrivons alors à épuiser la totalité de notre produit en utilisant à plusieurs reprises le même centimètre cube d'alcool à 75° séparé à chaque fois après refroidissement des cristaux déposés et remis en contact à chaud avec le produit à traiter.

C - IDENTIFICATION.

Une prise d'essai d'environ 1 mg. donne une très belle réaction de Scherrer-Gallois, de même intensité qu'un inositol type.

Dans des conditions identiques, ces cristaux consomment, la même quantité d'acide periodique et donnent la même courbe de dégagement de gaz carbonique à l'appareil de Warburg sous l'action de l'acide periodique qu'un poids égal de méso-inositol pur.

Le produit non recristallisé fond au bloc Maquenne entre

320 et 330°, donc bien plus haut que le méso-inositol (224-225°), l'inositol actif (247°) et l'inositol racémique (253°).

Après recristallisation dans l'alcool à 70°, nous avons trouvé au bloc Maquenne, par la méthode du point de fusion instantanée : 345° - 350° (1).

Ce point de fusion, ainsi que la quasi-insolubilité des cristaux dans l'alcool à 80° et leur faible solubilité dans l'eau, permettent de penser que cet inositol est peut-être du Scyllitol (P.F. : 345°-350°).

Malgré nos recherches, nous n'avons pu encore nous procurer un échantillon de scyllitol qui, par l'essai du mélange nous aurait permis de compléter avec certitude l'identification de notre produit.

CONCLUSIONS - Après une série très complexe de manipulation portant sur dix litres d'urine humaine, au cours desquelles l'inositol présumé a été suivi par notre méthode, nous n'avons pu séparer le méso-inositol comme si ce composé en milieu alcoolique se trouvait solubilisé par des impuretés que nous n'avons pu éliminer, mais nous avons finalement isolé environ 25 mg. d'un inositol qui paraît être le Scyllitol dont la présence dans l'urine humaine n'a jamais encore été signalée.

Le temps nous a manqué pour pratiquer une cinquième opération. Nous avons l'intention d'introduire quelques nouvelles modifications à notre technique, en particulier en ce qui concerne l'extract E, qu'il nous paraît maintenant indispensable de débarasser, avant tout épuisement à l'alcool, de ses substances glucidiques par un traitement à la magnésie.

(1) L'appréciation de la fusion des cristaux est gênée par leur sublimation très rapide à cette température.

CONCLUSIONS.

Au cours de ce travail, nous avons mis au point une technique de dosage de l'inositol par la mesure à l'appareil de Warburg du gaz carbonique dégagé sous l'action de l'acide periodique. Cette méthode permet, dans une certaine mesure, en même temps que le dosage, l'identification de l'inositol.

Pour appliquer cette technique à une solution contenant également des glucides, nous avons dû préciser les conditions de destruction de ces glucides par l'oxyde de magnésium, de façon à obtenir des résultats constants. Il nous a fallu ensuite mettre au point l'extraction des résidus de destruction de ces glucides, de façon à pouvoir effectuer un dosage manométrique dans des conditions satisfaisantes. Nous avons précisé les conditions que doit remplir la solution à doser, et les limites des erreurs possibles.

Il nous a été possible d'effectuer ce dosage sur l'urine humaine, en faisant intervenir une défécation et une concentration par la baryte alcoolique. Le dosage manométrique final de l'inositol permet de mettre en évidence une propriété caractéristique de ce corps, et assure donc une bonne spécificité.

Nous avons pu ainsi déceler une inosurie physiologique, de l'ordre de 150 mg. par litre. Il ne nous a pas été possible d'effectuer de nombreux dosages sur des urines pathologiques; nous avons cependant confirmé les travaux antérieurs : présence de fortes quantités d'inositol dans les urines glucosuriques, de quantités très variables dans les urines albumineuses.

L'extraction de l'inositol urinaire a présenté de très grandes difficultés. Il ne nous a pas été possible de séparer le méso-inositol, comme si ce composé en milieu alcoolique se trouvait solubilisé par des impuretés que nous n'avons pu éliminer. Nous avons finalement isolé environ 25 mg. d'un inositol qui paraît être le Scyllitol, dont la présence dans l'urine humaine n'a jamais encore été signalée.

BIBLIOGRAPHIE.

CLOETTA A.	- <u>Ann.</u> , 1856, <u>99</u> , 289.	18,	23,
COCHOT A.	- Journ. des Conn. Méd. (d'après <u>J. Pharm. Chim.</u> , 1883, <u>8</u> , 128).		19
DANHARDT	- <u>Natizen zur Chemie des Harns. Kiel</u> , 1868 (d'après Georges, De l'Inosurie, 1906)		21
FATOME M.	- <u>Thèse Doct. Univ. (Pharmacie)</u> , Paris, 1935.	41,	42
FIEVET-GUINARD Y. (Mme).	- <u>Thèse Doct. Univ.</u> (<u>Pharmacie</u>), Paris, 1945.	4,8,9,11,	46
FLEURY P. et AMBERT A.	- <u>Bull. Soc. Chim. France</u> , 1930, <u>47</u> , 420.		34
FLEURY P. et BALATRE P.	- Les Inositols Masson éditeur - Paris 1947.	1	29
FLEURY P. et BOUTOT L.	- <u>J. Pharm. Chim.</u> , 1922, <u>26</u> , 209		15
FLEURY P. et COURTOIS J.	- <u>J. Pharm. Chim.</u> , 1932, <u>26</u> , 341.		37
FLEURY P. et JOLY M. (Mlle).	- <u>J. Pharm. Chim.</u> , 1937, <u>26</u> , 341.	3,	5
FLEURY P. et MARQUE J.	- <u>J. Pharm. Chim.</u> , 1929, <u>10</u> , 241.		2
GALLOIS N.	- <u>Thèse Doct. Méd.</u> , Paris, 1864	17,27,	32
GALLOIS N.	- <u>Schmidt's Jahrbücher d. ges. Medicin</u> , 1865, <u>148</u> , (d'après <u>Z. anal. Chem.</u> , 1865, <u>4</u> , 264).		28
GEORGES H.	- <u>Thèse Doct. Méd.</u> , Paris, 1906.		30

HOPPE-SEYLER.	- <u>Handbuch der chemischen Analyse-</u> <u>achte Auflage, Berlin, 1909.</u>	20
JOLIBOIS P. et BERGER M.	- <u>C.R.Ac. Sc.,</u> <u>1947, 2, 79.</u>	16
JOLY M. (Mlle).	- <u>Thèse Doct. Univ. (Pharmacie),</u> <u>Paris, 1936.</u>	7,13,14
LANGE J.	- <u>Thèse Doct. Univ. (Pharmacie),</u> <u>Paris, 1933.</u>	6
LEBERT.	- <u>Lettre adressé à Gallois,</u> <u>in thèse de Gallois.</u>	25
MEILLERE G. et FLEURY P.	- <u>C.R. Soc. Biol.,</u> <u>1909, 67, 343.</u>	1bis, 31,43,45
MEILLERE G. et FLEURY P.	- <u>J. Pharm. Chim.,</u> <u>1910, 1, 348.</u>	33,39
NEEDHAM J.	- <u>Biochem. J.,</u> <u>1923, 17, 422.</u>	35
NEEDHAM J.	- <u>Biochem. J.,</u> <u>1929, 23, 319.</u>	36
NEWKOMM -	- <u>Inaug. Disert., Zurich, 1859</u> <u>(d'après Gallois, De l'Inosurie, 1864)</u>	24
PLATT B.S. et GLOCK G.E.	- <u>Biochem. J.,</u> <u>1943, 37, 709.</u>	12
STARKENSTEIN E.	- <u>Sitzungsber. d. biol. Sektion.</u> <u>d. Lotos, 56, mai 1908.</u>	44
STARKENSTEIN E.	- <u>Z. f. exp. Path. u. Therap.,</u> <u>1908, 5, 378.</u>	22
TANRET C.	- <u>C. R., 1889, 109, 908.</u>	40
VENDRELY R.	- <u>Th. Doct. Univ. (Pharmacie),</u> <u>Paris, 1944.</u>	47
VOHL H.	- <u>Ann., 1858, 105, 330.</u>	26

WARBURG O. - Bioch. Zeit.,
1919, 100, 239.

YOUNG L. - Biochem. J.,
1934, 28, 1428.

TABLE DES MATIERES.

	Pages
INTRODUCTION	5
PLAN DU TRAVAIL	7
Ière partie : DOSAGE DE L'INOSITOL EN SOLUTION PURE	8
Chapitre I : Corps et solutions utilisés	9
A - Inositol	9
B - Solution d'acide periodique $N \frac{10}{2}$	9
C - Solution d'acide periodique pur $N \frac{10}{2}$	10
Chapitre 2 : Dosage volumétrique de l'inositol	11
Chapitre 3 : Dosage manométrique de l'inositol	14
A - L'appareil de Warburg	14
B - La courbe de dégagement	15
C - Dosage de l'Inositol	17
Conclusions	18
IIème partie : DOSAGE DE L'INOSITOL EN PRESENCE DE GLUCIDES	19
Chapitre 1 : Les travaux antérieurs	19
Chapitre 2 : Destruction des glucides par l'oxyde de magnésium	22
1° - Description de la technique employée	22
2° - Justification de la technique employée	22
A - Influence de la qualité de la magnésie employée	23
B - Influence de la température de calcination de la magnésie	23
C - Influence de la durée de la calcination ..	23

D - Influence de la durée d'immersion de l'erlenmeyer dans le bain-marie	24
E - Influence de la quantité de magnésie utilisée	24
3° - Résultats obtenus	25
4° - Action de l'oxyde de magnésium à l'ébullition sur l'inositol	25
5° - Etude des "glucides résiduels"	25
Chapitre 3 : Elimination des "glucides résiduels"	27
1° - Technique diverses d'élimination des "glucides résiduels"	27
A - Elimination par précipitation	27
B - Elimination par extraction	28
2° - Description de la technique adoptée	28
3° - Justification de la technique adoptée	30
A - Elimination des "glucides résiduels"	30
a - Influence de la proportion d'alcool dans le mélange extractif	30
b - Influence de l'éther de pétrole dans le mélange extractif	31
c - Influence de l'acidité du milieu extractif	31
B - Perte en inositol	31
4° - Résultats obtenus	32
Chapitre 4 : Dosage de l'inositol en présence de glucides	34
1° - Description de la technique	34
2° - Calculs	36
3° - Conditions à remplir par la solution à doser..	37
A - Valeurs des volumes b,c,d,e	37
B - Teneur en glucose et inositol de la solu- tion à doser	38
4° - Erreurs	39
A - Erreurs provenant de la quantité d'inosi- tol existant dans la solution à doser, et du rapport inositol/glucose	39
B - Erreurs tenant aux lectures des dénivella- tions	40
C - Erreur totale	40
5° - Résultats obtenus	40

III ème partie : L'INOSURIE	42
Chapitre 1 : Les travaux antérieurs	42
A - Inosurie normale	42
B - Inosurie pathologique	42
Chapitre 2 : Dosage de l'inositol dans l'urine	44
A - Entrainement de l'inositol	44
1° - Entrainement de l'inositol par l'acétate basique de plomb ammoniacal	45
a - Influence de la proportion de sous- acétate de plomb	46
b - Influence de la quantité d'ammonia- que employée	46
c - Influence de la concentration en inositol	46
d - Influence de la température de précipitation	47
Conclusions	47
2° - Entrainement de l'inositol par les hydro- xydes de plomb et de cadmium	47
Conclusions	48
3° - Entrainement de l'inositol par la baryte alcoolique	48
A - Technique adoptée	49
B - Justification de la technique adoptée.....	49
1° - Influence de la durée de contact baryte-solution aqueuse	49
2° - Titre de l'alcool employé	50
3° - Durée de contact de l'alcool avec la solution barytique aqueuse d'inositol	50
4° - Température du contact de l'alcool avec la solution aqueuse barytique d'inositol.....	51
5° - Essais de remplacement de l'alcool par d'autres liquides	51
6° - Quantité d'acide sulfurique employée	52
C - Résultats obtenus	53
Conclusions	53

DEUXIEME THESE

L'ACIDE INOSITHOLHEXAPHOSPHORIQUE et ses SELS.

Biochimie et Physiologie

Paris, le

Vu

Le Président de Thèse

P. FLEURY

Vu

Le Doyen de la Faculté

R. Fabre

Vu et permis d'imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris,

J. Sarrailh

